Omaggio dell'A.

Dott. LUIGI SANI
Libero-Docente di Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinaria

LA SEMEIOTICA DEL SANGUE NEL CAVALLO E NEL BUE

TORINO - 1919
Tipografia del Signore
Via S. Massimo, 31-33

ISTITUTO DI PATOLOGIA SPECIALE E CLINICA MEDICA
DELLA
R. SCUOLA SUPERIORE VETERINARIA DI TORINO

(*Direttore:* PROF. GUIDO FINZI)

Dott. LUIGI SANI
Libero-Docente di Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinaria

LA SEMEIOTICA DEL SANGUE NEL CAVALLO E NEL BUE

TORINO - 1919
TIPOGRAFIA DEL SIGNORE
Via S. Massimo, 31-33

ALLA CARA MEMORIA

DEL

TENENTE DOTTOR FRANCESCO BORZI

CHE SACRIFICANDO SE STESSO SUGLI ALTOPIANI DI ASIAGO

OFFERSE ALLA GRANDEZZA D'ITALIA

UN ANIMO BUONO E GENEROSO - UNA MENTE ELETTA E COLTA

UNA VITA DI SICURE E FULGIDE PROMESSE

CON FRATERNO AFFETTO

INTRODUZIONE

L'Onorevole Commissione composta dai Chiarissimi Professori Faelli, Finzi, Ghisleni, Marcone, Magazzari, convinta che la semeiotica del sangue non ha raggiunto nel campo della nostra medicina quell'importanza che le spetta, volle affidarmi come tema di libera docenza: « *La semeiotica del sangue nel cavallo e nel bue* ».

L'Onorevole Commissione nell'assegnarmi la trattazione di tale argomento, si è evidentemente prefissa di completare una lacuna nella nostra letteratura, giacchè i pochi lavori comparsi finora sull'ematologia del cavallo e del bue, nei suoi rapporti colla diagnosi clinica, segnano limitatissimi progressi nello studio della questione.

Col lavoro che noi presentiamo abbiamo effettivamente colmato la lacuna tanto sentita?

Malgrado le condizioni speciali derivantici dal servizio militare, che non ci permisero di svolgere tutto quanto noi avremmo desiderato fare, pure speriamo di essere riusciti a riassumere e ad esporre, in forma semplice e con moderno indirizzo di vedute, tutto il vasto, e talora ancor molto complesso, contributo di studi tecnologici e sperimentali, che formano l'edificio dell'argomento a noi affidato.

Se tutte le difficoltà, che un tema ampio e non sempre facile come questo ci ha presentate, non saranno state superate dal nostro buon volere, se non mancheranno imperfezioni o lacune, richiedendo la trattazione del problema sussidii tutto speciali, ci meriti indulgenza e giustificazione lo sforzo da noi fatto, con questo lavoro sperimentale e critico, per

portare nel campo della medicina veterinaria un primo lavoro di semeiotica del sangue.

Lo schema da noi seguito è il seguente:

In una *prima* parte abbiamo svolto i metodi d'esame, che più strettamente hanno rapporti con i mezzi fisici di cui la clinica dispone, in una *seconda* quelli che maggiormente si appoggiano alla chimica, in un *terza* tutte le ricerche batterioscopiche applicabili al sangue, intese a mettere in evidenza batterii, protozoi, ecc. Nella *quarta* parte abbiamo trattato dei varii procedimenti di tecnica microscopica, ematologica. Nella *quinta* furono presi in considerazione gli elementi figurati del sangue ricordandoli nella loro costituzione anatomica e fisiologica, e soffermandoci diffusamente su tutte le variazioni patologiche che essi possono subire e che clinicamente possono essere apprezzate.

Con queste cinque parti avremmo potuto ritenere soddisfatto il nostro compito, interpretando alla lettera, la denominazione del tema. Difatti la semeiotica del sangue deve intendersi come quel complesso di indagini analitiche e di deduzioni sintetiche, limitate al sangue, che permetta di assurgere ad una diagnosi, o rafforzare questa e illuminare sulla prognosi.

Abbiamo aggiunte le ultime due parti, riferentisi al reperto ematico che può essere rilevato nelle malattie ove il sangue subisce alterazioni patologiche, ritenendo utile di riferire in tanti brevi paragrafi per ciascuna di esse, i sintomi ematici speciali.

Queste così riassunte sono le linee principali nelle quali ci siamo tenuti per lo svolgimento del tema.

Maggio 1919.

PARTE PRIMA

Metodi d'esame fisici

Prelevamento del sangue.

Quando si tratta di prelevare una piccola quantità di sangue sufficiente per un esame microscopico a fini diversi, per il conteggio dei globuli rossi, per il conteggio dei globuli bianchi, basta generalmente praticare una semplice puntura che dia esito ad alcune goccie di sangue. Nel cavallo per lo più si opera sulla mucosa gengivale del labbro inferiore: contenuto l'animale nel modo più opportuno, applicando un torcinaso al labbro superiore o ad un orecchio, si rovescia il labbro inferiore e si punge la gengiva di esso, dopo avere ben pulita la parte con soluzione fisiologica, indi con alcool e poi di nuovo con soluzione fisiologica. Nel bovino la puntura di prelevo riesce più comodo e più pratico farla in corrispondenza del padiglione dell'orecchio, dopo avere asportati i pochi peli che disturberebbero l'operazione. Prima della puntura è anche qui necessario di pulire la regione con alcool-etere, onde disinfettarla e sgrassarla. Per la puntura serve bene una comune lancetta o la punta di un bistury; si può anche ricorrere ai cosidetti aghi di Francke, di Sahli, di Ries, usati specialmente in medicina umana per la puntura del dito. E' bene evitare ogni pressione o schiacciamento dei tessuti vicini al punto inciso, fatti allo scopo di ottenere una maggiore quantità di sangue, perchè con tali manovre, come è facile comprendere, si può alterare la costituzione del sangue che fuoriesce dalla puntura. Si trascurano le prime goccie, e si usano per i voluti esami le goccie successive.

Occorrendo una maggiore quantità di sangue (per diagnosi batteriologiche, seminagioni, inoculazioni, per analisi, ecc.) si suole per lo più ricorrere all'estrazione di esso da una vena superficiale: la giugulare. A tale scopo servono i soliti aghi da siringa, scelti fra i più grossi, o apposite cannule metalliche affilate. Nel far rigonfiare il tronco venoso viene esercitata da un aiuto, in corrispondenza della porzione inferiore della doccia giugulare una compressione digitale.

Nel bovino invece, specie nei grossi animali, è generalmente necessario, per far rigonfiare il tronco venoso, di applicare una corda intesa a stringere la base del collo.

L'ago o la cannula viene introdotto in direzione centripeta o meglio in direzione centrifuga, ad essi può inserirsi un apposito innesto metallico porta-gomma. Ai fini di qualsiasi indagine non si raccolgono i primi c. c. di sangue, si raccolgono i successivi nel recipiente scelto per l'esame (provette, tubetto da centrifuga, vasetto con perline, vasi e provette parafinati, ecc.).

Se il prelevo viene fatto su animali con forme setticemiche sarà prudente, prima dell'operazione, radere il pelo e disinfettare bene la parte; dopo è sufficiente disinfettare.

Se si desidera che il sangue venga a contatto dell'aria il meno possibile lo si aspiri in una siringa.

Apprendiamo dalla letteratura che i punti scelti, dai diversi autori per ottenere il sangue, onde eseguirne i preparati, sono differenti. Così Bidault nel cavallo punge il labbro inferiore, evitando la commessura, ricca di vasi linfatici. Wiendick preferisce il bordo dell'orecchio. Storch taglia un piccolo segmento del bordo libero dell'orecchio. Gasse rovescia l'orecchio all'infuori, pulisce coll'etere la faccia interna glabra del padiglione dell'orecchio e fa su questa faccia una incisione lunga un centimetro. Franke punge con un ago da siringa il cavallo, contenuto, in una vena della faccia, sia nella vena dorsale del naso, sia nella vena labiale superiore o in una branca collaterale. Se il cavallo è indocile preleva il sangue dalla giugulare. Durroux osserva che la puntura labiale può alterare i preparati per la presenza di saliva, o di cellule della mucosa, o di detriti alimentari, inoltre può essere intollerata da animali molto sensibili. Secondo lui il

taglio del bordo dell'orecchio è pure sconsigliabile. Consiglia quindi di prelevare alcune goccie di sangue dalla punta dell'orecchio, oppure meglio, colla puntura della giugulare, specialmente nei cavalli adulti, mediante un piccolo ago.

Zschokke sceglie un ramo della vena brachiale che scorre alla faccia interna dell'avambraccio, 10 cm. al disotto della castagna. Questo vaso essendo molto superficiale può essere aggredito senza alcun inconveniente. Schindelka ha scelta la vena superficiale che scende dall'angolo dell'occhio. Una leggera incisione permette di raccogliere alcune goccie di sangue, l'emorraggia si arresta poi colla semplice compressione digitale. Postnikow preleva il sangue dai vasi superficiali della pelle, servendosi di un piccolo ago speciale che ha forma di freccia e con esso fa una piccola incisione attraverso alla pelle. Meier, Montandon, Bonard prelevano il sangue dalla giugulare, ecc.

E' convinzione nostra che il luogo ed il metodo da adottarsi sia precisamente quello da noi più sopra consigliato, il quale risponde nel miglior modo a tutte le esigenze ed è affatto privo di inconvenienti.

Troviamo non rispondenti a concetti di praticità e di buona tecnica le sedi indicate da Franke, da Storch e da Zschokke, ecc., per il prelevo del sangue dal cavallo.

L'uso di ventose scarificanti, di non molta praticità anche in medicina umana, potrebbe fornire notevole quantità di sangue, ma e perchè con questo sono estratti, per la forza di suzione, contemporaneamente dei succhi interstiziali e per la difficile sterilizzazione della grande estensione cutanea con cui il sangue viene a contatto è un procedimento poco adatto. Potrebbe tutt' al più avere indicazioni per taluni esami sierologici.

Salasso. — Non accenneremo alla tecnica del salasso praticato colla fiamma, bistury retto, lancetta, ecc., essendo questo un metodo che dovrebbe essere proscritto dalla pratica veterinaria.

Il metodo che invece può fornirci una forte quantità di sangue, ottenuto scrupolosamente sterile e facilmente raccolto negli opportuni vasi, è quello eseguito cogli indicati trequarti. Sono essi quelli Dieckeroff, di Caspar, di Nocard, ecc.

Nel cavallo è sufficiente la compressione digitale fatta da un aiuto per provocare la stasi nella giugulare; nel bovino, poichè il sangue si scarica per la giugulare accessoria, satellite della carotide, è difficile talvolta ottener ciò colla semplice compressione delle dita.

Si ottiene meglio applicando sulla base del collo una cordicella disposta a nodo corsoio, di cui l'estremo libero è tirato da un aiuto. Si radono i peli, si disinfetta bene la regione in corrispondenza al limite del terzo mediano col terzo superiore del collo, si incide la pelle con una lancetta; attraverso la soluzione di continuo ottenuta si introduce il trequarti che si spinge lungo la vena nel connettivo sottocutaneo per alcuni centimetri e poi con un colpo secco si perfora la parete della giugulare e lo si spinge in essa completamente. Estratto lo stilletto, la camicia dei trequarti può riceveve dall'estremità libera un accordo metallico a collo di oca che, provvisto di una gomma, conduce il sangue direttamente in boccie, vasi, ecc, senza avere il minimo contatto coll'aria. Usando materiali sterili si può essere sicuri di ottenere sempre il sangue perfettamente sterile.

Nel bovino, oltre che alla giugulare, si può praticare il salasso alla mammaria. Si fissano solidamente la testa e gli arti posteriori del bovino, legandoli ad X al disopra dei garretti. Il punto di elezione per l'incisione è in corrispondenza al cerchio dell' ipocondrio. Scegliendo questa vena è ancora più indicato il trequarti alla lancetta, perchè meno pericoloso di fronte alla facilità di trombosi per la posizione declive della vena e di infezione della ferita fatta.

Modo d'uscita del sangue.

Fatta la puntura, seguendo la tecnica sopra indicata, sulla gengiva labiale o sulla pelle dell'orecchio per prelevare poche goccie di sangue, il modo col quale queste fuorescono non fornisce al clinico dati per nulla affatto interessanti; può invece interessare per la tecnica perchè se la fuoriuscita è facile o difficile si eseguirà la puntura più o meno profonda.

La fuoriuscita in generale è facile quando la mucosa o la pelle è sottile, e ben sanguificata, generalmente allora la emorraggia si arresta facilmente, mediante una leggera compressione con un batuffolo di cotone. E' pure facile negli stati anemici intensi e così quindi nelle leucemie, nelle emofilie. In questo caso però è difficile arrestare l'emoraggia, che talvolta può anche richiedere l'applicazione di sostanze ad azione emostatica diretta od indiretta.

La fuoriuscita è difficile se la pelle è spessa o la mucosa ispessita o quando eventualmente, come vorrebbero alcuni autori, la coagulabilità del sangue è così notevolmente aumentata che può essere richiesta una seconda puntura più profonda per ricavarne poche goccie.

Colore del sangue.
Opacità, odore, sapore.

Fisiologicamente è rosso rutilante il sangue arterioso, rosso scuro il sangue venoso. Le variazioni di colore che si possono apprezzare ad occhio nudo, dal punto di vista clinico, ci forniscono dati attendibili in modo solo relativo e sulla natura e sul significato dei medesimi potranno indirizzarci accurati esami istologici e spettroscopici. Secondo Pages il sangue degli animali giovani è più pallido di quello degli adulti; nel bue, sempre secondo tale autore, la colorazione differisce spesso secondo la razza; il sesso ha pure un'influenza manifesta; infatti, il maschio, sempre secondo il Pages, ha il sangue più sensibilmente colorato della femmina.

Da parte nostra possiamo osservare, che i molti salassi da noi fatti, specialmente al cavallo, non ci permisero di constatare variazioni fisiologiche, in riguardo al tenore di tinta del sangue, da ascriversi a diversità di razza, di sesso, di età, ecc. L'intensità del colore, del resto, è dovuta alla ricchezza dei globuli rossi, le variazioni sono dovute alla povertà di essi o alle trasformazioni che essi subiscono per processi patologici, o ad alterata proporzione fra globuli rossi e bianchi.

Il sangue è pallido nelle leucemie, anemie e idroemie, perchè è aumentata la parte liquida di esso e diminuita invece quella globulare. Nelle leucemie talvolta assume un colore rosso-cioccolato o rosso-sbiadito, e mescolato in piccole proporzioni con acqua distillata dà origine ad un liquido torbido in luogo di dare una soluzione limpida e trasparente (Marcone).

Il sangue assume una colorazione oscura, nerastra nella cianosi, negli stati asfitici, nella algidità e in talune intossicazioni; brunastra negli avvelenamenti per sostanze metemoglobinizzanti (nitriti, clorati, ecc.); rosso-ciliegia negli avvelenamenti per ossido di carbonio; nero-picea in alcune malattie infettive e discrasiche (carbonchio, setticemia, scorbuto); rosso-lacca quando si ha distruzione dei globuli rossi in vivo e l'emoglobina si diffonde nel plasma (babesiosi, emoglobinemia). Negli avvelenamenti da idrogeno solforato il sangue può, nei casi gravi, assumere un caratteristico colorito con riflessi leggermente verdastro sporco.

L'*opacità* del sangue è in rapporto alla presenza dei globuli rossi, solo quando questi sono distrutti e l'emoglobina si è diffusa esso può diventare se non trasparente almeno traslucido.

L'*odore* del sangue è *sui generis* ed è dovuto alla presenza di acidi grassi volatili.

Il *sapore* è salato, leggermente dolciastro.

Determinazione della quantità; quantità del sangue e sua distribuzione.

Noi non possediamo ancora in semeiotica veterinaria un metodo esatto, per la determinazione della quantità del sangue, che possa essere facilmente applicato. In medicina umana recentemente sono state istituite numerose ricerche comparative nei soggetti sani e negli ammalati; però i metodi impiegati o sono troppo complicati, o non abbastanza sicuri per poter essere consigliati e correntemente applicati a scopi diagnostici. In previsione ad una loro semplificazione e ad

una possibile applicazione in medicina veterinaria sarà comunque bene accennare, per quanto succintamente ad essi.

Col metodo del Kottmann prima e dopo l'iniezione di una quantità nota di soluzione fisiologica, si procede ad un esame comparativo dei valori principali (residuo secco, contenuto emoglobinico, volume di globuli rossi); dalla diluizione trovata si calcola la quantità totale del sangue.

Questo metodo ha lo svantaggio che la soluzione fisiologica iniettata abbandona ben presto il letto sanguigno e produce un leggero elevamento termico. Per questo Sahli consiglia invece il liquido di Ringer.

Anche il metodo di Haldane-Smith non sembra essere sufficiente e nemmeno privo di *pericoli:* con esso si fa respirare al paziente una certa quantità conosciuta di ossido di carbonio, il quale satura l'emoglobina, indi si misura colorimetricamente il grado di saturazione della emoglobina e si risale a calcolare da esso la quantità dell'emoglobina stessa, infine dal tasso emoglobinico si deduce la quantità totale del sangue. Questo metodo utilizzato e lievemente modificato anche da Plesch e da Verum è però molto complicato. Morawitz, per determinare la quantità relativa del sangue, riesce, con una certa approssimazione, col calcolo pletismografico delle percentuali di volume del sangue del braccio.

Ultimamente Prével, con una serie di ricerche metodiche sulle variazioni della pressione arteriosa misurata con l'apparecchio oscillometro di Pachon, ha osservato che la ampiezza dell'oscillazione aumenta coll'aumentare del calibro del vaso esaminato, pur non variando la pressione ed ammette che l'ampiezza della oscillazione per un segmento dato di arteria, è proporzionale alla quantità di sangue che pel segmento passa ad ogni pulsazione.

Una rapida critica dei suaccennati metodi è sufficiente per dimostrare che un nostro tentativo per sfruttarli nell'esame del sangue del cavallo e del bue non poteva fornire che risultati assolutamente privi di attendibilità. È convinzione nostra che i diversi metodi, se pur effettivamente possono dare qualche risultato di importanza relativa in medicina umana, non possono assolutamente, allo stato attuale, trovare impiego in medicina veterinaria.

La quantità totale del sangue è stata calcolata per il cavallo sano a 1/18 del peso del corpo e per il bovino sano a 1/29. Tradotte queste cifre in frazioni decimali la massa sanguigna equivale nel cavallo al 5,5 per cento del peso del corpo, nel bovino solo al 3,44 per cento. Così un cavallo di 500 Kg. avrebbe circa 27 Kg. di sangue, mentre un bovino dello stesso peso ne avrebbe soltanto 17 Kg.

Le cifre surriferite sono accettate dalla maggior parte dei fisiologi e patologi, per quanto Heissler avrebbe ottenuto che nel cavallo il sangue *in toto* corrisponde a 1/10 del peso del corpo e nel bovino a 1/13. In questo caso in frazioni decimali nel cavallo il sangue rappresenterebbe il 10 per cento del peso del corpo, nel bovino il 7 per cento circa.

La massa del sangue è in rapporto diretto collo sviluppo della muscolatura e in rapporto inverso allo sviluppo del grasso (Bollinger).

Così, ad es., in un cavallo da corsa, dove è ben sviluppata e molto attiva la muscolatura e poco abbondanti i depositi di grasso la massa sanguigna sarà considerevole, l'opposto nei bovini sottoposti all'ingrasso e quindi ad una vita a stabulazione quasi esclusiva.

Questa regola si ripete anche negli individui della stessa specie (Hagem, Ranke, Heissler).

Le *variazioni fisiologiche* della massa sanguigna sono minime e passeggere, intervenendo processi regolatori che subitamente la riconducono alle proporzioni normali.

Dalle esperienze di Welcker, di Schüclking, di Panum, di Hayem risulta che i neonati della specie umana e canina avrebbero un tasso di sangue un poco più elevato che non gli adulti.

Nella gravidanza Gsheidleu e Spielberg notarono un aumento graduale della massa sanguigna nelle cagne. La introduzione di bevande tenderebbe ad aumentare la totalità del sangue, ma gli apparati renale, sudoriparo e respiratorio evitano rapidamente che ciò avvenga, come la diminuzione del sangue in seguito a sudori profusi e disturbi diarroici è presto compensata dall'introduzione d'acqua.

Pages calcolando la quantità di sangue ottenuta mediante il salasso, stabilisce per il cavallo il rapporto di 1 : 20

del peso del corpo. Si comprende facilmente però la relativa esattezza di tale calcolo desunto dall'applicazione di un metodo assolutamente non corrispondente. Il sesso sembra, secondo Pages, non portare modifiche, mentre invece queste sono notevoli secondo le razze: i cavalli di puro-sangue avendo una massa sanguigna superiore a quelli di mezzo sangue e questi più elevata di quelli ordinarii di grossa taglia. Nel bue pure la diversità di razza influisce sulla quantità del sangue tanto che animali del peso medio di 700 chilogrammi possono dare un quantitativo diverso secondo le razze a cui appartengono da litri 25-28 a 20-22 fino a 16-20. Al contrario di quanto avrebbe riscontrato per la specie equina, per quella bovina il Pages avrebbe osservato che il sesso ha pure influenza notevole: il toro avendo più sangue del bue e la vacca più del toro. La secrezione lattea sembra aumentare la quantità del sangue. Anche tra vitello e bue si notano variazioni. Concludendo Pages afferma che nel bovino sono così notevoli le variazioni, che si possono stabilire rapporti ben diversi, come i seguenti: 1/12 del peso del corpo per bovini dell'Alvernia, 1/30 per bovini della Senna e dell'Oise.

Come abbiamo già detto, da parte nostra non è stato possibile eseguire esperienze che ci fornissero dati interessanti, ma per quella che è induzione clinica, dalle semplici osservazioni fatte in questo senso riteniamo che agli effetti della clinica non possano avere importanza le eventuali variazioni fisiologiche, e individuali che possano verificarsi nella massa sanguigna del cavallo e del bue.

Un aumento stabile della massa sanguigna non è ottenuto neppure in seguito a interventi terapeutici; lo dimostrano le esperienze di Lesser e di Worm-Muller, che osservarono ritornare normale il quantitativo di sangue in animali nei quali avevano eseguito la trasfusione fino all'80-100 per 100; ed anche quelle di Hamburger, che colle iniezioni di siero fisiologico non ottenne che un aumento del tutto passeggero, anche con siero fisiologico ipertonico e perciò capace di aumentare il potere di assorbimento del sangue.

Per *modificazioni patologiche* si ha un aumento della massa sanguigna nella pletora o poliemia (ad es. nella pletora

idroemica), una diminuzione nelle anemie, o meglio nelle ipoemie.

È molto probabile inoltre che se noi avessimo a nostra disposizione mezzi sicuri per una esatta valutazione quantitativa del sangue nei riguardi della diagnostica, si potrebbero raccogliere dati interessanti sulla variazione quantitativa del sangue anche in altri stati patologici. Intanto si può ritenere che in casi di anemia perniciosa assieme al contenuto emoglobinico è diminuita anche la quantità totale del sangue.

Quanto alla *distribuzione del sangue* essa anche fisiologicamente varia molto secondo i bisogni funzionali dei singoli organi, ma neppure per rendersi conto di essa si posseggono mezzi clinici opportuni.

Allo stato attuale degli studi, concludendo, è possibile clinicamente arguire la massa totale del sangue sopra o sotto la norma ricorrendo soltanto all'esplorazione del polso, al colorito delle mucose apparenti, all'esame delle condizioni generali del cavallo e del bovino.

A titolo di curiosità va ricordata la quantità elevatissima di sangue che possono fornire durante il loro servizio i cavalli sieroproduttori.

Alcuni cavalli dell'Istituto Pasteur durante la loro vita hanno reso fino 2600 litri di sangue, vale a dire sei volte più del loro peso (Prévot). A scopo di indagine abbiamo voluto anche noi renderci conto di quale quantità di sangue potesse rendersi fornitore un cavallo sieroproduttore. A tale riguardo, per le nostre numerose osservazioni, possiamo affermare che cavalli sieroproduttori possono annualmente fornire fino oltre 300 litri di sangue, senza risentirne danno, e che inoltre essi possono allo stesso modo rinnovare mensilmente la massa totale del loro sangue: difatti cavalli, il cui quantitativo di sangue *in toto* poteva aggirarsi attorno ai 27-30 litri ci hanno permesso di ricavare da loro per diversi mesi di seguito un totale di 23-24 litri di sangue, senza presentare perciò disturbi di sorta, pur essendo sottoposti ad una iniezione mensile di antigene, fatta allo scopo di mantenere alto il potere immunizzante dello siero.

Il peso specifico del sangue.

Disponendo di grandi quantità di sangue la determina zione del peso specifico è facile, pesando un dato volume di esso col picnometro.

Agli effetti della diagnosi clinica per piccole quantità, in medicina umana sono raccomandati i procedimenti di Roy, von Jackson, Devoto ed altri. Preparate miscele a diverse proporzioni di acqua distillata e glicerina a peso specifico noto, si lascia cadere in esse una goccia di sangue. Si comprende che in quella miscela nella quale la goccia rimane sospesa, il peso specifico del sangue è rappresentato dal peso specifico della soluzione idro-glicerica. Fano utilizza invece una soluzione di gomma rabica a peso specifico ben determinato.

Hammerschlag prepara una soluzione di cloroformio (peso spec. 1,485) e di benzolo (peso spec. 0,88) in modo tale da avere un peso specifico totale 1050; aspirato con un tubo capillare un po' di sangue se ne deposita, quasi alla superficie della soluzione, perchè cadendo non si sgretoli, una goccia. Se la goccia va al basso ha peso specifico maggiore, se resta in alto ha peso specifico minore della miscela; nel primo caso si aggiunge cloroformio, nel secondo benzolo, agitando cautamente finchè la goccia si mantenga immobile a qualunque altezza della miscela, allora un aerometro indica il peso specifico della miscela, e da questo si deduce senz'altro quello del sangue.

Eykmann, osservando che l'altezza a cui la goccia rimane è diversa secondo il peso specifico di essa ha modificato così il metodo: prepara una serie di soluzioni saline, tinte con traccie di colori di anilina (osserviamo che è bene non scegliere colori rossi, ed usarne minime traccie), di peso specifico lievemente differente (ad es. 0,0002); quella goccia di queste soluzioni che rimane allo stato di riposo alla stessa altezza della goccia di sangue entro la miscela cloroformio-benzolo indica senz'altro la densità del sangue.

Il metodo capillare-picnometrico di Schmalz consiste nell'uso di un tubetto di vetro ad estremità aperte e levigato. In una bilancia per ricerche chimiche è pesato, ben pulito e asciutto, poi riempito d'acqua distillata a 15° centig., poi di sangue. Il rapporto fra il peso assoluto dell'acqua e quello del sangue ci dà il peso specifico del sangue.

Hammerschag determina il peso specifico del plasma sanguigno raccogliendo il sangue in un tubicino lungo 3-4 centimetri con un diametro 1-2 mm., lavato con ossalato sodico al 3 %, per impedire la coagulazione, e previa chiusura con cera alle estremità viene mantenuto verticale. Formatosi il sedimento spezza il tubicino nel punto ove questo confina col plasma e procede col metodo da lui indicato per il sangue *in toto*. In modo analogo tale autore determina il peso specifico del siero, permettendo però che nel tubetto il sangue coaguli e si separi il siero.

Il Bonard recentemente riferendo ricerche da lui compiute, descrive un nuovo apparecchio da lui ideato, che per la praticità e semplicità sua merita un cenno illustrativo.

L'emodensimetro di Bonard risponde al principio di pesare alla temperatura circa dell'acqua di rubinetto una certa quantità di sangue paragonandola ad una identica quantità di acqua. L'apparecchio si compone di due parti di vetro cilindriche: la parte inferiore della capacità di 8-9 cm³ è destinata a raccogliere il sangue ed è mantenuta verticale per la presenza inferiormente di una piccola ampolla contenente mercurio; la parte superiore costituisce una camera d'aria chiusa che si prolunga superiormente in un tubo che contiene una scala, la quale segna da 1000 a 1070.

Una volta introdotto il sangue le due parti si uniscono e rimangono aderenti perchè le superfici di contatto sono ben levigate e preventivamente spalmate di grasso. Indi l'apparecchio si introduce in una provetta contenente acqua e dopo tre minuti si fa la lettura. I tre minuti permettono all'emodensimetro di raggiungere la stabilità voluta, vincendo tutte le influenze che potrebbero nuocere ad essa. Per una più completa descrizione di questo apparecchio, che non ci fu ancora possibile procurarci, ma che ci sembra assai raccomandabile nella pratica della clinica veterinaria, anche per

l'esame della densità dell'urina, rimandiamo al lavoro originale del Bonard il quale presenta anche le figure illustrative, ed è comparso nel numero di marzo di quest'anno del « Schweiger Archiv für Tierheilkunde ».

Secondo le ricerche di Sabrazès, Muratet e Durroux nel cavallo, tanto nel maschio che nella femmina, il peso specifico del sangue è 1049.

Questi autori hanno osservato che una tale densità era costante anche in un cavallo e in una cavalla, nei quali si aveva una notevole differenza (di oltre un milione per mm. cubico) nel quantitativo di globuli rossi. Il peso specifico del sangue di cavallo sarebbe, secondo questi autori, più debole di quello dell'uomo, ove raggiunge le cifre 1057-1058.

Anche secondo le ricerche di Durroux la densità media del sangue di cavallo è di 1049.

Postnikows ha misurata la densità del sangue sopra 75 cavalli, castrati e femmine, ed ha fatte tutte le sue osservazioni col metodo di Hammerschlag; i suoi risultati sono i seguenti:

Su dieci puledri, di età inferiore all'anno, ha trovato una media di 1043,6 con cifre estreme di 1030 e 1050. Su 24 cavalli dell'età di 3-6 anni, ha trovato delle medie che variano fra 1052 e 1057. Classificando gli stessi cavalli secondo il loro mantello, ottiene per i grigi 1057,2, per i bai 1053,2, per i sauri 1052,1 e per i neri 1052.

Classificati secondo il sesso questi cavalli forniscono una densità media di 1053 per i castrati e di 1053,6 per le femmine. Su sei cavalli di 10-12 anni la densità media è di 1054,2, su 7 di 15-18 anni è di 1049,2.

Postnikows ha pure esaminato il sangue di cavalli bolsi. Per tre fra quelli più affetti ha trovato un peso specifico di 1060, 1059, 1060; per altri tre, di cui la bolsaggine era incipiente, ha constatato densità di 1048, 1051, 1053. Nei tre primi casi la quantità di globuli rossi contenuta in un millimetro cubico era molto superiore alla normale.

Nell'anemia Postnikows ha riscontrato un peso specifico di 1029,8. Concludendo, secondo questo autore, i cavalli di media età avrebbero un peso specifico del sangue che si aggirerebbe attorno a 1053-1055; i puledri e i vecchi

hanno densità più bassa; la differenza di sesso non ha importanza significante; nei cavalli grigi essa è più forte ed aumenta pure nell'enfisema polmonare.

Masse dà come cifra media della densità del sangue nel cavallo 1060. Yakimoff e Kohl hanno fatto uno studio interessante sul sangue delle diverse razze di cavalli. Le loro ricerche però si sono limitate a soli stalloni. Eccettuato in uno, in tutti hanno notato una densità superiore a 1050; le medie ottenute sono: per il puro sangue inglese 1054,4, per il percheron 1052,7, per l'ardennese 1049,5, per il suffolk 1055,3, per il brabançon 1055, per il clydesdale 1052, per il cavallo di razza comune 1052,6.

Marek dà come media per la densità del sangue del cavallo 1050-1060 e in seguito ad osservazioni sue personali 1052-1054.

Il Bonard servendosi del suo emodensimetro ha condotto ricerche su oltre 860 cavalli tutti in perfetto stato di salute, curandosi di stabilire le eventuali variazioni fisiologiche del peso specifico, dovute all'età, al sesso, alla razza e al temperamento dell'animale, ecc.

Il valore normale della densità, dedotto da un numero così alto di osservazioni, varia, secondo questo autore, fra 1048 e 1055 e la cifra più frequentemente riscontrata è 1050. Il peso specifico del sangue varia coll'età: si abbassa nei primi giorni della vita, si eleva poco a poco fino all'età di 2 a 3 anni, si riabbassa verso i quattro anni, rimonta rapidamente verso i cinque, si eleva un poco fino ai 14 poi diminuisce più l'animale invecchia. Riguardo al sesso mentre fra cavallo castrato e femmina non vi sono differenze, gli stalloni hanno densità uno po' più alta (3 - 4 millesimi).

Il peso specifico è più alto quanto più evidenti sono la purezza di razza e il temperamento.

La densità del sangue varia secondo le ore della giornata; è massima fra le 11 e le 12; scende bruscamente verso le 14, rimane stazionaria o ricade lievemente nel pomeriggio e sulla sera, varia poco nella notte, risale rapidamente nel mattino. Non hanno alcuna influenza un lavoro moderato e la taglia dell'animale. Invece aumentano il peso specifico la traspirazione e la bolsaggine; in questo caso l'aumento è in rapporto colle lesioni anatomiche e può raggiungere la cifra di 1069.

Nei cavalli affetti da anemia, infettiva o no, la densità del sangue subisce una diminuzione che è in ragione diretta collo stato della malattia, può raggiungere la cifra 1029. A questo proposito Bonard afferma che nei casi di enfisema polmonare e di anemia, la misura del peso specifico del sangue ed il suo tasso in emoglobina è di una grande utilità per stabilire la diagnosi e le cifre ottenute permettono di stabilire con più esattezza la prognosi, nel senso della gravità, della malattia.

Per altre ricerche eseguite sul sangue di bovini il Bonard può concludere che la densità del sangue di toro (1056) è superiore a quella del sangue di vacca (1048,5). Questa densità è debole per i giovani vitelli (1036,4) ed aumenta coll'età. I buoi argentini e francesi hanno una densità superiore a quella dei bovini svizzeri. L'autore crede dover attribuire questo fatto al diverso modo di alimentazione e di vita, quindi le citate cifre non avrebbero un significato importante.

Esperienze nostre ci fornirono i risultati che ora diremo. Per esse ci servimmo del metodo Hammerschlag, che ci sembrò il più semplice e il più pratico. A controllo di questo però sfruttammo la possibilità che cavalli e bovini ci offrono di raccogliere dalla giugulare la quantità di sangue (30 - 40 c. c.) necessaria per stabilire direttamente con un piccolo aerometro la densità del sangue stesso. In tale modo, che solo tali animali possono permetterci di impiegare, si può essere certi che i risultati ottenuti sono esatti e sicuri. E' però necessario procedere all'operazione molto in fretta per prevenire la coagulazione oppure impedire questa come ora diremo. Con i due metodi ricercammo pure il peso specifico del plasma e del siero. Per impedire la coagulazione, onde separare il plasma, abbiamo preferito mettere al fondo della provetta che raccoglieva il sangue una minima quantità di irudina per metterci al riparo dal fatto che la frammischianza colla soluzione di ossalato di soda ci alterasse il valore della cifra, per quanto Hammerschag dica che è tanto piccola tale differenza da poter essere trascurata.

A proposito dell'irudina apriamo una parentesi, essa è un estratto di sanguisuga, posta in commercio dalla casa Sachse di Lispia.

Basta mescolare a 7,5 cm³ di sangue di coniglio un mmgr. di irudina per impedirne la coagulazione. Il sangue di cavallo, essendo più povero in fibrina di quello di coniglio, alcune pellicule di questa sostanza in sospensione con 10 cm³ di sangue di cavallo basteranno per impedirne la coagulazione, e ciò per la durata di parecchie ore.

L'irudina presenta inoltre altri vantaggi sulle altre sostanze anticoagulanti, impiegate finora, quali sono: prima di tutto quello che non è necessario farne una soluzione prima di mescolarla col sangue, sciogliendosi essa bene senz'altro in questo; secondariamente la dose d'irudina necessaria è così minima, che essa non può provocare errori nella lettura dei vari risultati. In terzo luogo, all'esame microscopico, il sangue al quale sia stata addizionata dell'irudina non rivela alcun cambiamento nella morfologia degli elementi figurati.

In Italia questa sostanza, quest'anno, non ci fu possibile procurarcela dal commercio, noi ci servimmo di quella che ci fu fornita in accompagnamento al viscosimetro di Determann.

Ritornando alle esperienze da noi fatte eccone i risultati.

Riferiamo soltanto le medie da noi ottenute che sono: nei puledri dai 2 ai 5 mesi 1051; nel cavallo di 6 anni 1056, di 10 anni 1054, di oltre 13 anni 1053; nella cavalla di 7-8 anni 1054; nel bue 1054; nella vacca 1052.

Esame del tempo necessario alla coagulazione ed esame della coagulabilità del sangue.

Diversi sono i metodi che possono permettere di stabilire il tempo necessario alla coagulazione del sangue.

Col metodo di Vierordt si aspira in un tubicino del diametro di un millimetro una goccia di sangue, dall'altro lato si introduce un crine bianco di cavallo ben pulito e sgrassato e ad ogni minuto lo si spinge un po' più all'infuori, questo dapprima esce incolore, poi quando comincia la coagulazione è macchiato di traccie di coagulo e se non trascina con sè tutto il coagulo, ritorna incolore quando la coagulazione sia terminata. I minuti che intercorrono fra

questa e l'inizio dell'operazione stabiliscono il tempo della coagulazione.

Secondo il metodo di Wrigt si riempiono di sangue diversi tubi capillari; dopo vari periodi di tempo si prova a soffiare nei tubetti, per cacciarne fuori il sangue. Quando comincia la coagulazione, ciò non è più possibile.

Guiart e Grimbert su tre portaoggetti ben puliti portano una goccia ciascuno di sangue appena prelevato, ricoprono questi con una campana umida, ogni minuto inclinano cautamente i vetrini; si riconosce l'avvenuta coagulazione nel momento in cui essendo verticali i vetrini, le goccie non modificano più il loro profilo. Si possono usare anche delle provette al fondo delle quali si lascia cadere la goccia.

Russel e Brodin esaminano al microscopio una goccia pendente, sulla quale di tanto in tanto soffiano con una leggera corrente d'aria. All'iniziarsi della coagulazione cessa lo spostamento dei globuli rossi.

Col metodo di Bürker si mette una goccia di sangue assieme ad una d'acqua distillata in un porta-oggetti concavo, mantenuto sopra un tavolino a bagno-maria alla temperatura di 25°. Ogni mezzo minuto si agita con una bacchettina di vetro, finchè ad essa si attacchino i primi filamenti di fibrina.

Questi vari metodi però non sono esenti da critiche: Miliani ha dimostrato che il sangue attraversando i tessuti e specialmente la pelle si carica di sostanze coagulanti, Delezenne e Spangero e Arthus osservano che tolto direttamente dai vasi il sangue coagula meno rapidamente, Arthus ha visto che in diversi prelevamenti successivi la velocità dapprima debole diviene sempre più rapida, Hayem su uno stesso animale ottenne variazioni inesplicabili.

Nel sangue normale di cavallo il siero sta al coagulo, allorchè la retrazione è completa, nelle proporzioni di 1,5 a 2 (Arloing).

Portando alcuni c. c. di sangue in una provetta da reazioni ci si può render conto della coagulabilità del sangue osservando il modo di comportarsi del coagulo. Esistono variazioni notevoli: se la coagulazione avviene lentamente i globuli rossi sedimentano.

Riguardo al tempo che impiega il sangue a coagulare fisiologicamente è assai minore quello che richiede il sangue di bue a confronto di quello richiesto dal sangue di cavallo, nel quale ultimo la coagulazione avviene in 20 - 30 minuti.

Il Durroux afferma che il sangue del cavallo adulto inizia la coagulazione in un tempo un po' più lento che non il sangue umano nelle stesse condizioni. In sei casi egli osservò la coagulazione cominciare dopo questi rispettivi tempi: 28^1, 28^1, 26^1, 14^1, 14^1, 16^1. Osservò ancora che il sangue di cavallo sano raccolto in un tubo di oltre 8 mm. di diametro presenta una coagulazione classica del tipo plasmatico.

Nel bue, secondo Marek, la coagulazione si compie in capo a 8 - 10 minuti.

In riguardo al tempo necessario alla coagulazione del sangue abbiamo anche noi tante volte potuto constatare come nella specie bovina avvenga in un tempo assai più breve che non nell'equina. In quella infatti, secondo le nostre ricerche, può ritenersi, come media, necessario un tempo di 8 - 15 minuti. Tanto per l'una che per l'altra specie poi, in seguito a numerose osservazioni abbiamo potuto convincerci che diversifica la coagulabilità del sangue e il tempo necessario a compiersi la coagulazione secondo la temperatura ambiente, la forma del vaso, la quantità di sangue raccolto, la qualità di esso, se venoso o arterioso, l'età, l'individuo, ecc. La temperatura ambiente, e quindi la stagione ha importanza, perchè più essa si avvicina a quella di 37° e più in fretta e più completa si compie la coagulazione. La forma del vaso influisce nel senso che più il diametro di esso è largo e meglio si effettua la coagulazione; maggiore è la quantità di sangue raccolto e più rapida e più compatta avviene la coagulazione, così se si salassa un animale in serie si osserva tale fatto assieme a quest'altro che procedendo nei salassi aumenta progressivamente la quantità sierosa del sangue, mentre diminuisce il coagulo solido. Le differenze nella coagulazione fra sangue venoso e arterioso non sono molto sensibili, alcune volte il fenomeno è più precoce nel sangue venoso.

D'accordo col Bonard, anche noi abbiamo osservato che il sangue dei cavalli giovani coagula molto più in fretta

che non quello dei cavalli vecchi; inoltre esso aderisce di più alle pareti dell'ago che serve al prelevamento, tanto che talvolta ne ustruisce facilmente il lume. Abbiamo anche constatato che alcune volte il sangue di certi cavalli si coagulava rapidamente specialmente nella parte superiore della provetta ove veniva raccolto, alle pareti della quale aderiva tenacemente, tanto che cercando di staccarlo, vi si riattaccava dinuovo impedendo così una bella separazione di siero. Questo fatto lo abbiamo osservato con più frequenza nei bovini e specialmenle nei giovani vitelli.

Ancora riguardo al tempo necessario alla coagulazione esistono variazioni individuali assai notevoli; sangue di cavalli in perfetto stato di salute presentava una coagulazione completa già dopo 3 - 5 minuti.

Il tempo necessario alla coagulazione è più breve del normale, nelle stasi, nelle emorraggie, e in molte altre malattie; esso è invece prolungato e può anche mancare in alcune malattie infettive (carbonchio ematico, setticemie), in alcuni avvelenamenti (nell'avvelenamento da fosforo, ecc.), nell'anemia perniciosa, nella leucemia, nell'emofilia, nelle insufficienze epatiche, nel cancro del fegato, ecc. (Weil, Nolf, Nolf e Herry, Morawitz e Lossen, Addis, Sahli).

La coagulabilità e il tempo di coagulazione possono anche variare in seguito ad applicazioni medicamentose — siero normale eterologo, la gelatina sono coagulanti, il peptone in dose piccola (1-2 %) favorisce, in dose maggiore al 2 % o ritarda o inibisce la coagulazione, l'irudina è anticoagulante, ecc., come pure un ufficio importante lo esplica il tenore di sali di calcio nel sangue stesso, che sappiamo sono necessarii alla coagulazione.

Prima che essa si compia e superiormente ad esso si forma uno strato bianchiccio (la cosidetta cotenna).

Se la coagulazione è rapida, la fibrina non lascia sfuggire i globuli rossi e non si forma la cotenna. Questo fatto denota una ricchezza di fibrina (iperinosi) e uno stato pletorico. In questo caso per la rapidità colla quale si è formato il coagulo si stacca male dalle pareti del recipiente e la retrattilità di esso manca più o meno; secondo Hayem e Lenoble si osserva nelle malattie infettive acute (polmonite,

pleurite, ecc.) secondo Zundel all'inizio di un processo infiammatorio acuto, dove il numero delle piastrine, che molti ritengono la causa della retrattilità del coagulo, è conservato normale od anche aumentato mentre in altri casi (porpora, anemia perniciosa, stati cachettici, ecc.) è la diminuzione di esse che deve essere incriminata (Hayem, Le Sourd e Paniez, Arthus e Chapiro, Cesana). Il coagulo è povero nell'idroemia, è molle e gelatinoso nelle febbri puerperali, nelle affezioni morvose, ecc.

Alle volte il grumo si scioglie nel siero come nell'emoglobinuria, nell'ittero grave, però questo fenomeno di ridissoluzione del coagulo ha valore solo quando si produce rapidamente (sangue lacca).

Determinazione del contenuto emoglobinico nel sangue.

Indubbiamente la ricerca del valore emoglobinico del sangue ha un grande valore nella clinica in vista specialmente delle variazioni quantitative che l'emoglobina in seguito a fatti patologici può subire. Ed è tanto più importante valutarlo metodicamente in considerazione che il semplice esame delle mucose, non è sufficiente sempre a decidere della ricchezza o povertà dei globuli rossi (Zschokke, Wetze).

Anche nella medicina umana, dove pure l'esame del colorito della pelle può per lo più dare un indirizzo che a noi viene a mancare, si è venuto sempre più confermando il prezioso aiuto che può ottenersi ricorrendo a questa indagine.

Per determinare il contenuto emoglobinico del sangue furono proposti numerosi metodi, il maggior numero dei quali consiste nel paragonare il potere colorante del sangue variamente diluito con campioni colorati artificialmentente, dai quali si può rilevare direttamente il grado percentuale della emoglobina in essi supposto, riportato al valore normale.

Tallquist ha fatto preparare una scala, dove una serie graduale di sfumature dal rosso corrispondono al colore di una soluzione al 10, 20, ecc., 100 % di emoglobina normale. Pezzetti di carta assorbente sono annessi alla scala; uno di questi viene imbevuto con una goccia di sangue da esami-

nare, e appena questa si è diffusa, viene confrontato colla scala. Sono dati approssimativi quelli che si possono ottenere, ma pur tuttavia sufficienti a un indirizzo diagnostico.

Il *cromometro* di Hayem è costituito di due cellette di vetro rotonde eguali e di una scata colorimetrica formata da spazii rotondi, dello stesso diametro delle cellette e gradualmente di colorazione più intensa che sta ad indicare una titolazione nota di emoglobina. In una celletta si mettono 5 cc. di acqua distillata più alcuni mm. di sangue in esame, nell'altra 5 cc. di acqua distillata soltanto; questa portata sopra ai dischetti colorati della scala serve per confrontare la tinta di questi colla soluzione di sangue dell'altra celletta.

L'*emocromometro di Malassez* è costituito essenzialmente di un piccolo serbatoio in una provetta di vetro, graduata in modo che in esso si possa aspirare il sangue diluito con acqua distillata nelle proporzioni volute e di un recipiente a cuneo graduato contenente una soluzione di picrocarminato d'ammoniaca. L'apparecchio si completa di un sistema di dispositivi fatti in modo che la diluizione del sangue può essere comparata con i varii punti del recipiente a cuneo, dove la intensità del colore varia secondo lo spessore del liquido. Ottenuto l'equilibrio fra tonalità di colore della soluzione sanguigna e della soluzione campione, si consulta una tavola apposita che ci dà il rapporto dell'emoglobina.

Merita più ampia descrizione il *cromocitometro* del Bizzozzero, il quale è molto pratico per la sua semplicità.

È costituito di due elementi essenziali: una camera a capacità variabile e una lastina di vetro colorato per mezzo di uno strato sottile di ossiemoglobina.

La camera è costituita da un tubo che porta anteriormente un dischetto di vetro fisso, il quale costituisce la parete anteriore della camera, quella posteriore è pure un dischetto di vetro, è fissato ad un secondo tubo che entra nel primo e vi scorre mediante apposita vite, per cui i due dischetti muovendo opportunamente la vite, possono, avvinandosi, combaciare, allontanandosi, lasciare fra essi un piccolo spazio. Sopra la camera un recipiente imbutiforme riceve il sangue diluito e questo attraverso un piccolo foro con i movimenti della vita può essere aspirato nella camera o ricac-

ciato da essa per modo che, secondo la più o meno distanza dei due vetrini fra loro, è maggiore o minore lo spessore dello strato di sangue diluito che viene ad esservi compreso. Tale spessore è facilmente determinato con precisione essendo i tubi graduati in modo che è facile stabilire il grado di avvitamento dei tubi.

L'apparecchio serve per due usi: alla citometria quando il sangue è diluito in soluzione fisiologica e quindi i globuli rossi sono conservati intatti; alla cromometria, quando questi sono distrutti in una soluzione di acqua distillata.

In questo secondo caso serve come termine di paragone il secondo elemento essenziale dello strumento: la lastrina di vetro. Completano l'apparecchio due provettine a fondo piatto della capacità di 2-4 cc.; due pipette graduate, l'una per 1/2 e 1 cc., l'altra per 10 e 20 mmc. di liquido, questa provvista di un tubetto di gomma che serve per aspirare; una boccettina contenente soluzione fisiologica e un bastoncino di vetro appiattito alle estremità per rimescolare.

Per la *citometria* si aspirano dalla goccia di sangue, ottenuta nei modi indicati, 10 mmc. colla pipetta piccola, che poi vengono sciolti in mezzo cc. di soluzione fisiologica, agitando opportunamente affinchè la sospensione si renda omogenea. Questa è versata nel recipiente imbutiforme del citometro i cui vetri combinano fra loro. Si svita il tubo interno in modo che i vetrini allontanandosi lascino uno spazio nel quale viene aspirata la diluizione di sangue. Si procede all'esame in una camera oscura, nella quale sia accesa una candela, non disturbata da correnti d'aria; l'osservazione va fatta a 1 metro e mezzo dalla candela, avendo l'apparecchio sostenuto colla mano sinistra colla visuale del tubo in corrispondenza dell'occhio destro e potendo colla mano destra imprimere movimenti di avvitamento e svitamento al cilindro interno in modo da modificare lo spessore del sangue. Avendo precedentemente svitato l'apparecchio in modo che lo spessere del sangue sia di alcuni millimetri, la fiamma non riuscirà visibile, per cui è necessario assottigliare lo strato; facendo questo, la fiammella comincierà ad apparire a contorni sfumati, i quali andranno man mano facendosi più chiari e precisi. Quando i tre quarti superiori della fiamma appaiono

a contorni netti, si procede ancora all'avvitamento e svitamento del tubo in modo di essere sicuri di arrivare in quel punto nel quale essi sono « spiccati, ma non tanto, che svitando leggermente il tubo, non tornino a farsi diffusi. La fiamma stessa poi, non appare lucente, ma è come velata e di colore rossigno ». È questo il punto voluto e non rimane che stabilire lo spessore dello strato di sangue, leggendolo sull'istrumento.

Per usare lo stumento come *cromometro* si prepara la soluzione di sangue in acqua distillata invece che in soluzione fisiologica e si versa nell'imbuto aspirandola poi per qualche millimetro nella camera. È inteso che all'apparecchio va precedentemente applicata la lastrina di vetro controllo e per impedire che si abbiano a verificare anche minime differenze, si prelude la via ai raggi luminosi che non passano attraverso al vetro e allo strato di sangue, applicando anteriormente allo strumento un cartone annerito (pure annesso allo strumento che porta due fori, ad uno dei quali si fa corrispondere lo strato di sangue, all'altro il vetro campione. Si alza allora l'apparecchio e lo si dirige verso una superficie bianca bene illuminata o verso il cielo (non contro il sole).

Avvitando il cilindro interno si modifica lo spessore dello strato di sangue finchè si ottenga che il colore di questo appaia di uguale intensità a quello del vetro campione. A questo punto non resta che leggere sulla scala lo spessore della soluzione di sangue.

Tanto per il citometro che per il cromometro in forti casi di anemia, può darsi che la soluzione sanguigna sia così scolorita che uno spessore di 6 mm. (che è il massimo dato dall'istrumento) non basti per ottenere gli effetti voluti. Si diluiranno allora 20 mmc. di sangue in mezzo cc. di soluzione fisiologica o d'acqua.

Di uno stesso sangue contemporaneamente si possono preparare le due diluizioni, per i due esami, impedendo la evaporazione della seconda mentre si esamina la prima e lavando e asciugando l'istrumento fra l'una e l'altra.

La *graduazione* dello strumemto si desume dallo spessore dello strato della soluzione sanguigna, che è in rapporto inverso della ricchezza emoglobinica. La scala citometrica

ha per base la ricchezza emoglobinica del sangue da una media d'osservazioni su uomini sani dai 20 ai 40 anni. Il sangue normale segna 110 al citometro; quindi 1 corrisponde a 100 di emoglobina; si ha quindi la formula

$e' = \frac{eg}{g'}$, dove g rappresenta il grado del sangue normale, g' quello in esame, e la ricchezza emoglobinica del sangue sano, e' la ricchezza ignota del sangue in esame. Supponendo $g' = 180$ si avrà

$$e' = \frac{100.110}{180} = \frac{11000}{180} = 61{,}1.$$

La seguente tabella serve a risparmiare questi calcoli:

Grado del citom.	Emoglobina	Grado del citom.	Emoglobina
110	100.0	170	64.7
120	91.6	180	61.1
130	84.6	190	57.9
140	78.5	200	54 0
150	73.3	210	52.4
160	68.7	220	56.0

Per il *cromometro* si determina prima la colorazione del vetro campione paragonando a quale grado corrisponde il grado segnato da un dato sangue al citometro. Se il sangue segna 100 al citometro e 140 al cromometro, contenendo 100 di emoglobina il primo, anche il 140 avrà la stessa percentuale. Se il sangue darà al cromometro 280 avremo:

$$é = \frac{100 \times 140}{280} = \frac{14000}{2800} = 50.$$

Per la determinazione del contenuto emoglobinico in un sangue di cavallo o bovino si stabilisce prima il rapporto fra la percentuale di emoglobina fra uomo sano e cavallo o bue sano e poi da questo si desumono le variazioni per ogni singolo caso.

Per l'*emoglobinometro di* Gowers si aspira una piccola quantità di sangue (0,02 c. c.) con una pipetta, si versa in un cilindro di vetro graduato, si lava la pipetta con acqua

distillata e si diluisce di tanto il sangue fino a che il suo colore corrisponda esattamente a quello di una gelatina picro-carminica contenuta in un tubetto chiuso alla lampada (il colore del quale corrisponde a quello di una soluzione all'1 °/₀ di sangue normale). Il confronto va fatto di fronte ad un fondo bianco; il cilindro nel quale si scioglie il sangue porta una scala che serve a leggere il valore percentuale in emoglobina del sangue.

Coll'*emometro* di Fleischl-Miescher viene fatto un confronto tra una certa quantità di sangue diluito ed un cuneo di vetro colorato con della porpora d'oro. Con una pipetta da miscele, che permette di diluire di 200 e di 400 volte una quantità di 1 c. c., oppure di 0,5 c. c. di sangue, si aspira di questo in modo che arrivi fino al segno 1 o a quello 0,5; lo si diluisce e lo si mescola con una soluzione di soda. Il sangue così diluito viene versato in uno scompartimento, che rappresenta la metà precisa del recipiente a fondo di vetro che serve per le analisi; nell'altro scompartimento del recipiente, diviso dal primo da un setto verticale, si versa dell'acqua distillata. Il recipiente viene quindi posto su di un piccolo tavolo, il quale permette, mediante uno speciale dispositivo a vite, che il cuneo di vetro colorato possa scorrere sotto allo scompartimento dove c'è l'acqua, mentre si illumina l'apparecchio derivando i raggi luminosi, con uno specchietto sotto annesso, da una sorgente artificiale. Appena vediamo che il colore del cuneo colorato si presenta uguale alla soluzione del sangue, si legge ciò che segna l'apposita scala che si trova nell'apparecchio e la quantità assoluta di emoglobina resulta in milligrammi, da una speciale tabella, che viene unita ad ogni apparecchio.

L'*emometro* di Sahli è basato sul principio che l'emoglobina si trasforma se mescolata con acido cloridrico in ematina, la quale viene poi confrontata con identica soluzione di sangue normale.

L'apparecchio consta di una pipetta della capacità di 0,2 c. c.; di un tubetto di vetro aperto con una graduazione da 1 a 140; di una bottiglietta con dell'acido cloridrico normale 1/10 e di un tubetto chiuso colla soluzione campione, cioè di cloridrato di ematina al 1 °/₀. Quest'ultima soluzione

arriva nel tubo chiuso ad un'altezza che corrisponde al 100 della graduazione incisa sull'altro tubo aperto; la soluzione rimane sempre dello stesso colore perchè può essere rimescolata con una perla di vetro che è stata chiusa nella soluzione stessa. Si versa nel tubetto di prova la soluzione di acido cloridrico fino a raggiungere il segno 10 ed anche meno; per mezzo della pipetta si aspirano 0,2 c. c. di sangue che si soffia con precauzione dentro la soluzione. Appena avvenuta la mescolanza, si forma una soluzione bruna scura di cloridrato di ematina, che si allunga con acqua, fino a raggiungere la colorazione del tubetto campione. Il numero che si trova di rimpetto al menisco del liquido, ci dà il valore emoglobinico calcolato in percentuali. Per potere meglio apprezzare le sfumature di colore, i due tubetti si trovano su di un sostegno, la cui parete posteriore consta di una lastra di vetro color latteo.

I valori ottenuti nell'uomo oscillano fra 80 e 100 e nella donna tra 70 e 90, limiti fisiologici abbastanza vasti, che corrispondono alle oscillazioni normali nel numero dei globuli rossi. Con cinque milioni di essi, la quantità normale di emoglobina deve essere 90 %. Il liquido campione deve essere mantenuto allo scuro e la lettura va fatta rapidamente perchè l'ematina all'aria si oscurisce facilmente.

Coll'*emocolorimetro* di Autenrieth e Koenisberger si trasforma una certa quantità di sangue in cloridrato di ematina, come nell'emoglobinometro di Sahli, e questo senza diluirlo oltre viene confrontato con una soluzione campione conservabile, otticamente equivalente, la quale è sospesa in un sostegno cuneiforme. Spostando il recipiente cuneiforme, il sangue viene confrontato con degli strati di vario spessore della soluzione campione ed il valore relativo viene poi letto in un'apposita scala.

Servono ancora al dosaggio dell'emoglobina l'*emoglobinometro a recipienti cuneiformi* di Plesch, *l'emometro a cuneo* di Grützner, l'*ematoscopio* di Henocque, l'*emospettrofotometro* di Vierordt perfezionato da Hüfner, la *pipetta doppia colorimetrica* di Hoppe-Seyler, l'*apparecchio colorimetrico* di Zangemeister; l'*emoglobinometro* di Nebelthan; l'*emoglobinometro* di Dare, il *ferrometro* di Jolles ecc., ma tali appa-

recchi anche in medicina umana hanno assai meno frequente applicazione.

Il contenuto di emoglobina nel sangue normale di cavallo secondo Müller (lo ottenne servendosi di un metodo proprio, titolando con acido nitrico diluito) è del 16-17 per 100, per il bue del 10,3 %. Secondo Bezançon e Labbé nel bue è dall'8,5 al 10,42 %. Nasse ha trovato l'11,62 % di emoglobina nel sangue di cavallo, Simon ne ha trovato l'11,67 %. Schindelka servendosi dell'emometro di Fleischl e confrontando le cifre da lui ottenute col termine fisso di 100 che rappresenta il contenuto normale di emoglobina nel sangue dell'uomo crede di poter ammettere che nei cavalli sani la quantità di emoglobina oscilli fra 71 ed 88 per cento. Gli estremi da lui ottenuti sarebbero 93 e 62.

La differenza fra le cifre di Müller e di Schindelka dipende dal fatto che il primo autore fa il rapporto dell'emoglobina riferito al sangue, il secondo del contenuto di emoglobina nel sangue di cavallo raffrontato al contenuto stabilito normale nel sangue dell'uomo. Questa osservazione vale in parte anche per le cifre che riferiremo più oltre.

Schindelka in riguardo alle variazioni fisiologiche del tasso in emoglobina del sangue, dalle sue ricerche, deduce che questo varia durante la giornata avendo un massimo fra le 12 e le 14 e un minimo fra le 16 e le 17. L'ingestione di una grande quantità d'acqua diminuisce il valore in emoglobina e la perdita lo aumenta, al contrario una alimentazione secca non ha influenza alcuna. Altrettanto si può dire per la stagione, la taglia dell'animale, il colore del mantello, lo stato di nutrizione. Invece il sesso e l'età hanno influenza notevole. Durante gli anni nei quali il cavallo è in piena efficienza per la produzione di lavoro, la media del tasso di emoglobina del sangue rimane in limiti assai stretti; quando i cavalli arrivano ad una età più avanzata, il tenore in emoglobina aumenta cogli anni. Durante la gestazione Schindelka ha notato una diminuzione del tasso di emoglobina; nei puledri giovanissimi una percentuale più alta che sulla madre.

Sabrazes, Muratet e Durroux hanno constatato nel cavallo il 70 % della cavalla il 77 %. Secondo Durroux il tasso di emoglobina varia da 68 a 84 %; la media è di 73,65 %.

Quinquaud ritiene che la quantità di emoglobina sempre nel cavallo varia secondo l'età, alla stessa stregua dell'ossigeno e le sue ricerche gli forniscono i seguenti dati.

	4 mesi	6 mesi	10 mesi
Emoglobina p. 1.000 c. c. di sangue	114,5	117,4	119
Ossigeno » » »	220	225	230

Abbrecht afferma che il tasso di emoglobina nel sangue è più forte nei puledri che negli adulti. Secondo Engelsen questa maggiore ricchezza in emoglobina dipende meno dal numero più grande dei corpuscoli rossi che dalla percentuale più alta in emoglobina delle emazie stesse.

Zschokke, adottando nelle sue ricerche l'apparecchio Sahli-Gower, ha osservato per il cavallo dei valori dal 60 al 110 % e li ha considerati come limiti fra i quali si mantiene il tenore in emoglobina del sangue nei cavalli sani. Meier ha esaminato il sangue di 12 cavalli sani; eccettuato due casi in cui ha trovato 110 e 125 % le sue cifre sono tutte comprese fra 95-100 %.

König ha esaminato pure 12 cavalli: 2 stalloni, 5 femmine e 5 castrati. Le cifre medie furono 105 % per gli stalloni e 92,5-100 % per gli altri cavalli. Egli ha constatato delle differenze fra mattina e sera e un notevole aumento in seguito alla traspirazione.

Bonard avendo esaminato il sangue di 250 cavalli giunge alle seguenti conclusioni: il tasso in emoglobina misurato coll'emometro di Sahli è di 50-60 per i cavalli ordinari, e di 60-65 per i mezzi-sangue. Esso varia sotto l'influenza dei seguenti fattori: età, sesso, razza, temperamento, alla stessa stregua del peso specifico, colla sola differenza che mentre questo dopo i 14 anni diminuisce il primo continua ad aumentare. La taglia, il colore del mantello, lo stato di nutrizione non influiscono per nulla.

Nella bolsaggine la percentuale di emoglobina del sangue aumenta considerevolmente ed è in rapporto colle lesioni anatomiche, può raggiungere fino il 100 %. Nei cavalli affetti da anemia, infettiva o meno, invece diminuisce notevolmente fino anche al 27 %.

Nei bovini il Bonard non ha constatato variazioni notevoli riguardo al sesso, tanto nella vacca, che nel toro, il valore medio è 78. Invece nei giovani vitelli il tasso in emoglobina è molto basso: la cifra media su 23 soggetti è 25,5 %, esso però aumenta col progredire dell'età.

Nostre ricerche eseguite col cromocitometro del Bizzozzero e coll'emometro di Fleischl-Miescher ci hanno fornito le seguenti medie (nel computo delle quali abbiamo tenuto conto anche della diversità di risultati, non molto accentuata, fornitaci dai due istrumenti); la percentuale è riportata a 100, considerando con questa cifra il contenuto normale di emoglobina nell'uomo. I campioni di sangue furono da noi prelevati da animali perfettamente sani. Ecco i risultati:

Nel cavallo	media	74	estremi	61-83
» bovino	»	57	»	42-69

Secondo Müller nel cavallo l'ingestione di alimento secco, il sesso, l'età, la stagione, la taglia del corpo, il calore, lo stato di nutrizione non modificano la quantità di emoglobina del sangue.

« Schindelka ha trovato che la quantità dell'emoglobina in alcuni morbi non si altera, in altri diminuisce, in altri aumenta ed in altri infine subisce delle grandi oscillazioni.

« Non si nota alcuna alterazione nella quantità di emoglobina nel capostorno, nel catarro cronico nasale, nel catarro della mucosa delle vie respiratorie, nella polmonite catarrale, nel catarro cronico intestinale, nelle coliche.

« Diminuisce la quantità di emoglobina in varie malattie: tubercolosi, piccionaia, croup della pituitaria, angina, morva, insufficienza e stenosi delle valvole aortiche, anemie, bronchettasia, peritonite cronica, ematuria e nel cosidetto tifo petecchiale (in tutti gli stati tossici, dovuti a sostanze tossiche vegetali-animali o a veleni chimichi).

Aumenta invece la quantità di emoglobina nella poliuria, nella diarrea, nel croup della mucosa bronchiale, nella cancrena polmonare, nel carbonchio, nell'emoglobinuria, nel tetano.

Subisce delle grandi oscillazioni durante il decorso dell'enfisema, della congestione e dell'edema polmonare, dell'edema della glottide, dell'influenza toracica » (Marcone).

Kruger nel cavallo ha stabilito che il valore del contenuto in emoglobina è lo stesso tanto per il sangue arterioso che per quello venoso. Lo stesso Lichtenstein e Reinert hanno dimostrato che ha una influenza insignificante sull'esattezza dei risultati il luogo di prelievo del sangue sull'animale.

Gli agenti terapeutici hanno diversa azione sul tenore di sangue in emoglobina: gli uni ne aumentano la quantità, e sono il ferro, la stricnina, ecc., gli altri la diminuiscono e sono gli antitermici (che trasformano in parte l'emoglobina in metaemoglobina), le sostanze che agiscono specificamente sul sangue, producendo avvelenamenti con emoglobinemia ed emoglobinuria, l'ioduro di potassio, ecc.

In medicina umana si è cercato di stabilire il valore prognostico che può assumere l'esame del tenore di emoglobina del sangue di fronte alle indicazioni o contro-indicazioni operatorie.

Esame della viscosità e dell'attrito interno del sangue.

L'esame sistematico della viscosità del sangue, stabilendo volta per volta il grado di esso, è probabilmente un fattore molto importante per l'emodinamica e per le funzioni organiche, poichè essa sta a rappresentare la resistenza prodotta dall'attrito interno del sangue. Servono a determinarla apparecchi che vanno sotto il nome di viscosimetri e mediante i quali si stabilisce il paragone fra la rapidità impiegata dal sangue fresco e dall'acqua distillata nell'attraversare tubi capillari di identico diametro e medesima lunghezza ed alla stessa temperatura ed identica pressione. Per essa vale la legge di Poisenille: « la rapidità di passaggio di un liquido è inversamente proporzionale alla sua viscosità, a parità di altre condizioni ». Nella semeiotica umana sono usati il *viscosimetro di Hirsch e Beck,* basato su ricerche fisico-chimiche di Ostwald e su studii fisiologici di Hürthle (in esso il liquido di paragone invece dell'acqua distillata è l'anilina distillata di recente, perchè essa ha peso specifico da considerarsi quasi uguale a quello del sangue), il *viscosimetro di Hess*, quello *di Determann* e *quello di Robert-Tissot.* Però essi sono

ancora molto complicati da non poter entrare nell'uso clinico anche nelle ricerche sulla nostra specie; è per questo che non crediamo opportuna una loro particolareggiata descrizione non vedendone per ora una pratica e conveniente applicazione nella medicina veterinaria, dove del resto le ricerche della viscosità del sangue fino ad oggi avrebbero unicamente un interesse scientifico.

Nella medicina umana i risultati ai quali sono giunti i varii autori portano a ritenere che il grado della viscosità del sangue dipenda dal tenore in sostanze albuminoidi del plasma, dal numero, come pure dallo stato dei globuli rossi e nel caso di grande aumento dei leucociti anche dal numero, dal volume e dalle condizioni di essi; anche il contenuto in anidride carbonica può influire (Hamburger).

In tesi generale si può dire che nelle anemie la viscosità del sangue è diminuita, mentre è aumentata nelle policitemie. Aumenta ancora il grado di viscosità nelle malattie infettive, dove si ha ritensione salina, come nella polmonite e più precisamente nel periodo di stato, e alla dipendenza di tutte quelle cause capaci di determinare abbondanti dispersioni di liquidi (così agirebbero purganti e diuretici).

L'ipoglicemia, più raramente la lipemia, si possono incriminare nel diabete.

Infine esiste equilibrio costante fra pressione sanguigna e viscosità (Martinet).

Secondo Durroux l'indice di viscosità del sangue di cavallo sano oscilla fra 3,6 e 4,6; la media è 4.

Determinazione del volume dei globuli rossi, contenuti nell'unità di volume. — Sedimentazione del sangue.

La determinazione del volume dei corpuscoli sanguigni contenuti nell' unità di volume mediante la sedimentazione spontanea del sangue *in toto* fu in semeiotica umana, per la lentezza colla quale questa si compie, sostituita dall' applicazione e dall' introduzione in ematologia di apparecchi che vanno sotto il nome di *ematocriti*, e coi quali il sangue

viene centrifugato. Gli ematocriti più usati sono quelli di Edin, Ergkmann, Hamburger, Gärtner, Köppe, Kotmann.

La coagulazione del sangue viene impedita coll'aggiunta di sostanze anticoagulanti (ossalato di sodio, ossalato di ammonio, irudina), oppure spalmando di olio l'interno della provettina, od ancora colla forte centrifugazione. Gli ematocriti sono apparecchi costituiti da tubi di vetro capillari, graduati, di forma conica, i quali una volta riempiti di sangue con sostanza anticoagulante, vengono sottoposti alla centrifugazione, in seguito alla quale è facile la lettura dei risultati in seguito all'avvenuta separazione dei globuli rossi dei leucociti e del plasma.

Per il *cavallo*, in medicina veterinaria, la sedimentazione del sangue non diluito può esser presa in utile considerazione.

Per il *bue* invece i corpuscoli rossi si depositano troppo lentamente, permettendo lo stabilirsi di alterazioni chimiche del sangue, le quali possono influenzare i risultati.

Per il cavallo usarono questo metodo Ostertag, Cesari, Zschokke, Darron e Barrier, Scotti.

In una siringa di vetro da cc. 10 si aspira un cc. di una soluzione al 3 °/₀ di fluoruro di sodio, indi la si riempie di sangue, aspirandolo direttamente dalla giugulare. Si versa in una provetta (alta cm. 22 del diametro di 8 mm.), facendo scorrere lentamente il sangue lungo le pareti di essa. La sedimentazione dapprima rapida poi più lenta, è completa in 12-24 ore, stabilendosi tre strati: l'inferiore rossastro delle emazie, il medio bianco-grigiastro dei leucociti, il superiore del plasma. L'altezza dei due strati inferiori ci permette di determinare la percentuale volumetrica rispettivamente degli eritrociti e dei leucociti, la quale si desume come dalla seguente formula:

$$\frac{\text{altezza globulare} \times 100}{\text{altezza totale}} = x \text{ indice volumetrico}$$

Incoraggianti per un'ampia applicazione nella pratica sono i risultati ottenuti dal Cesari e dal Barrier, per quanto lo siano meno quelli dello Scotti.

Per i globuli rossi, comparando i gradi ottenuti dalla sedimentazione con quelli forniti dal conteggio col contaglobuli di Thoma-Zeiss, il Cesari ottenne la seguente tavola:

Indice volumetrico	Tasso globulare
40	10.000.000
39	9.500.000
38	9.000.000
37	8.500.000
36	8.000.000
35	7.500.000
34	7.000.000
33	6.500.000
30	6.000.000
27	5.500.000
26	5.000.000
25	4.500.000
24	4.000.000
22	3.500.000
20	3.000.000

Per lo strato dei globuli bianchi va considerato che esso può essere suddiviso in una zona inferiore più compatta, nettamente distribuita, formata in massima parte da polinucleati ed una superiore fioccosa di una tinta giallastra, data specialmente da linfociti, la quale però talvolta è malamente evidente.

Le piastrine sarebbero incluse fra queste due zone.

L'altezza dell'anello leucocitario è normale se ha un'altezza di mm. 1-1.5; si può parlare di leucopenia se è inferiore a 1 mm. e di leucocitosi se superiore a mm. 2,5-3.

Dando il loro giusto valore alle possibili cause d'errore, nella tecnica e nella valutazione dei risultati, crediamo utile raccomandare questo metodo, che può essere alla portata di tutti per la sua semplicità, rapidità, innocuità e facilità d'uso; non richiede istrumentario costoso, ha il vantaggio di applicarsi a sangue circolante e non in stasi capillare; è attendibile, secondo Cesari, nella percentuale dell'80 °/₀.

Si è detto che in medicina umana è stata preferita la determinazione del volume percentuale dei globuli rossi ricorrendo all'ematocrito, perchè la sedimentazione del sangue si compie troppo lentamente; alcuni autori, per ovviare a detto inconveniente, raccomandano che essa venga fatta previa diluizione del sangue (Biermachi, Muller) attribuendole risultati più costanti che non coll'ematocrito.

Il metodo più indicato è quello di *Marcano*; l'apperecchio consta: 1° di una pipetta di 15 centimetri graduata in millimetri cubici; 2° di un bicchiere conico con delle divisioni che rispondono ciascuna a un volume di 5 mmc.

Si aspira nella pipetta del sangue fino alla divisione 25, poi del siero formolato fino alla divisione 100.

Si soffia lentamente il contenuto della pipetta nel bicchiere conico, che si chiude e si lascia in riposo. Il sangue non coagula e sedimenta. La caduta dei globuli ha luogo lentamente; il liquido comincia a schiarirsi dopo alcuni minuti e generalmente la separazione è completa dopo 24 ore.

Il siero formolato è così composto:

Soluzione di solfato di soda con densità 1020	cc.	100
Cloruro di sodio	gr.	1
Formolo del commercio	cc.	3

Avvenuta la sedimentazione completa basta leggere il numero delle divisioni che occupa il deposito e moltiplicare per quattro per avere il volume dei globuli per cento parti di sangue.

Molto probabilmente il metodo di Marcano è suscettibile di fornire ottimi risultati anche se applicato al sangue di bue, il quale alla sedimentazione spontanea coll'aggiunta di sola sostanza anticoagulante, come è stato ricordato, presenta gli stessi inconvenienti del sangue umano.

Riassumendo *Daland* ha proposto di sostituire al conteggio dei globuli rossi l'esame della sedimentazione.

Senza arrivare a questo estremo, l'esame della sedimentazione del sangue troverà utile impiego nella pratica, essendo il sedimento in rapporto diretto colla densità del sangue, la quantità d'emoglobina e sopratutto il numero dei globuli rossi.

Sabrazes, Muratet e Durroux, senza dedurne applicazioni pratiche, avrebbero stabilito in due cavalli, un maschio e una femmina, che il volume occupato dai globuli rossi è di 40 e una leggera frazione al disotto per il primo, di 40 e una leggera frazione sopra per la seconda. Essi concluderebbero da ciò che il plasma *di cavallo* è più *abbondante* di quello dell'uomo; un tale aumento è di 9 a 11 °/₀, ossia ogni 100 parti di sangue *40 in volume sono formate da emazie e 60 da plasma*, mentre che nell'uomo si trovano da 49,2 a 51,4 °/₀ parti di emazie e 48,6 a 58 °/₀ di plasma.

Quantunque le emazie del cavallo siano più numerose che non quelle dell'uomo, esse occuperebbero quindi meno posto.

Il Montandon nel febbraio di quest'anno comunica i risultati di sue ricerche, eseguite coll'ematocrito di Kottmann, su 402 cavalli.

Per le emazie su nove stalloni la percentuale più frequente è di 30-33,9 °/₀, difatti cinque presentano queste cifre, uno oltrepassa il 40 °/₀. In tre stalloni che furono soggetti alla castrazione, con esito brillante, l'autore constata una caduta notevole del numero degli eritrociti.

In 252 cavalle ottenne una media che si aggira fra il 28 °/₀ e il 35,9 °/₀. Sul totale delle cavalle esaminate il 54 °/₀ offriva questa media. Le cifre estreme vanno da 24 °/₀ a 40 e più °/₀.

Quest'ultima percentuale era presentata da 40 femmine (15,9 °/₀), fra le quali, è da notarsi, 7 erano puro-sangue e 7 assai vicine a tale purezza.

Per i cavalli castrati la media sarebbe pure compresa fra il 28 °/₀ e il 35,9 °/₀, e il numero dei cavalli che presentano una percentuale di erotrociti limitata da queste cifre raggiunge il 62,37 °/₀ dei 141 esaminati.

Appare dalle esperienze del Montandon che è lieve la differenza fra le percentuali in eritrociti negli animali di sesso diverso. Difatti se la femmina raggiunge un tasso generalmente più elevato che lo stallone, in compenso, la percentuale media di questo è più uniforme. Sui 402 cavalli esaminati la media del tasso di emazie è compresa fra 28 e 33,9 sono 172 i cavalli che presentano questa media.

I puri sangue esaminati, 7 su 12, presentano una percentuale assai elevata (42-43,9 °/₀).

L'autore si è preoccupato anche di stabilire l'influenza che potevano avere sulla percentuale di globuli rossi l'età, lo stato di salute, lo stato di nutrizione, l'impiego al quale era assoggettato l'animale. L'influenza dell'età è di minima importanza; un solo caso rimarchevole, quello di un puledro di un giorno che presentava il 38,9 °/₀ di eretrociti e il 0,6 di leucociti, mentre la madre aveva solo il 37,8 °/₀ e il 0,5 °/₀.

Per quanto non abbia potuto trarre conclusioni assolute il Montandon ritiene che l'animale sano possegga sempre più emazie che non quello ammalato. Un cavallo anemico che presentava solo il 23,4 °/₀ di eritrociti e il 0,4 °/₀ di leucociti ad un primo esame, dopo otto giorni di trattamento ferruginoso, rimanendo invariato il primo tasso, il secondo assurse all'1 °/₀. Un cavallo, in seguito ad anemia traumatica, presentò il 21,4 °/₀ di globuli rossi e il 0,6 °/₀ di bianchi; dieci giorni dopo presentava 34,6 °/₀ e 0,6 °/₀. In un altro cavallo l'autore constatò evidentemente l'abbassamento di questi tassi sotto l'influenza del salasso, stabilendo che dopo due giorni essi erano ritornati normali.

Interessante il caso di un cavallo affetto da gastro-enterite che dimostrò in primo tempo un volume di eritrociti del 60 °/₀, e dopo 5 giorni, avvenuta la guarigione, del 34,3 °/₀.

Lo stato di nutrizione influisce sul quantitativo di emazie nel senso che quanto esso è migliore altrettanto questo è più elevato.

L'influenza invece della diversa adibizione dell'animale è molto oscura, i risultati ottenuti da Montandon non permettono di arrivare a conclusioni esatte.

Determinazione della pressione osmotica, crioscopia e concentrazione molecolare del sangue.

La pressione osmotica del sangue dipende essenzialmente dalla quantità di sostanze cristalloidi e specialmente di sali contenuta nel siero. Questa quantità si misura determinando il punto di congelamento (crioscopia) del sangue, e si può

ricercare tanto col siero, che col plasma, che col sangue defibrinato, essendo identico il punto crioscopico.

Si usa a tale scopo l'apparecchio di Beckmann (vedi nel *Trattato di metodi clinici* del Sahli la figura).

Nel grosso bicchiere (*a*) contenente una miscela refrigerante (pezzetti di ghiaccio e sale da cucina) è contenuto un recipiente più piccolo a forma di provetta (*d*), che a sua volta contiene un terzo recipiente (*e*) e forma una camera d'aria fra questo e il primo. La provetta (*e*) riceve 10 c.c. di siero dall'appendice (*f*) ed è chiusa da un tappo attraverso al quale passa un termometro (*g*) minutamente graduato. Nel siero pesca oltre tutto il bulbo del termometro, anche un fil di ferro (*h*), destinato ad agitare il liquido, ciò che si deve appunto fare costantemente per tutta la durata dell'osservazione. Dapprima il termometro scende sotto il punto di congelazione per risalire poi rapidamente ad esso, rimanendovi fermo quando cominciano a separarsi le prime particelle solide. Occorrono 20-30 c.c. di sangue, che si defibrina e da cui si raccoglie il siero.

Citron ha costruito un semplice crioscopio all'etere, nel quale si può fare a meno del lungo procedimento colla miscela frigorifera.

Siccome si usa di designare l'abbassamento del punto di congelazione con Δ, così per esempio Δ 0,56 significa che il punto di congelamento di un dato sangue si trova a — 0°,56. Questa è la cifra ottenuta per il sangue normale dell'uomo. Secondo i diversi autori (Dreser, Koranyi, Fano e Bottazzi, Winter, Bousquet), si possono assegnare per il punto di congelamento del rispettivo sangue i valori medî seguenti:

per il cavallo . . . . Δ 0°603
per il bue . . . . . . Δ 0°558.

Per il cavallo però gli sperimentatori dànno delle cifre assai diverse per il punto di congelamento; quelle che si avvicinano di più sono le seguenti:

— 0°527 a 0°587	19	osservazioni;	media	—0°558 (Bugarsky e Tangl)
—0°600 a 0°605	4	»	»	—0°602 (Hamburger)
—0°560	1	»	»	—0°560 (Tammann)
—0°520	2	»	»	—0°520 (Sabrazes, Muratet e Durroux)
			»	—0°558 (Bousquet)
—0°550 a 0°565		»	»	—0°567 (Winter)
—0°520 a 0°561		»	»	—0°540 (Gryus)
—0°544 a 0°589		»	»	—0°566 (Lazarus Barlov)
			»	—0°538 (Rodin)
—0°550 a 0°0565	3	»	»	—0°558 (Tabusso)

Hamburger ha determinato 34 volte il punto di congelazione del siero di cavallo.

La media da lui ottenuta è $\Delta = -$ 0°564.

La tensione osmotica del sangue subisce notevoli variazioni in seguito a fatti patologici.

Il sangue, oppure il siero, può essere ipotonico quando si hanno disturbi che portano ad una diluizione sanguigna, è invece ipertonico quando si ha una ritenzione dei principî salini per difetto di eliminazione renale. È per questo che alcuni semiologi umani attribuirebbero grande importanza alle ricerche crioscopiche del sangue nell' esame della funzione renale.

Il siero è ipotonico nelle anemie, nelle cachessie, nella tubercolosi, nelle affezioni febbrili (non riferibili a processi morbosi a carico degli organi della respirazione), ecc.

Nelle malattie infettive la concentrazione molecolare del siero subisce delle variazioni nei diversi sensi (Pumpel, Widal e Lemé, ecc.). Il Tabusso nel tetano del cavallo ha osservato un abbassamento del punto di congelazione del sangue di 0°020.

Il siero è ipertonico nelle affezioni che intralciano le funzioni respiratorie, per esempio in alcuni cardiaci ed in certi pneumonici; come lo è nelle malattie dove è insufficiente la

depurazione renale, nel diabete, ecc. (Senator, Achard, Bernard, ecc.).

Interessanti ricerche ha eseguite il Van der Laan sull'equilibrio osmotico fra il sangue, il latte e la bile nella vacca allo stato fisiologico, che per il loro interesse ci sembra opportuno ricordare anche nella parte che si riferisce al solo latte.

Gli studî dell'autore hanno dimostrato che la concentrazione osmotica del latte e della bile è eguale a quella del sangue che li ha originati. La depressione del punto di congelazione del sangue normale di vacca varia tra 0,53° e 0,57° c. Il punto di congelazione del sangue è indipendente dalla razione somministrata all'animale o dalla condizione di digiuno prolungata per parecchi giorni. Invece se si fa ingerire dalla vacca una grande quantità di liquido, oppure delle forti dosi di sale di Glauber, la depressione del punto di congelazione del sangue diminuisce nel primo caso, aumenta nel secondo. Anche in queste condizioni anormali l'equilibrio fra i punti di congelazione resta lo stesso per il latte ed il sangue.

L'autore conclude dalle sue osservazioni che la determinazione del punto di congelazione è il miglior mezzo per verificare se siano state aggiunte al latte delle piccole quantità di acqua. Ogni latte il cui punto di congelazione è superiore a —0,53° c. deve essere considerato come adulterato.

Le precedenti esperienze dell'autore, concernenti le concentrazioni osmotiche del sangue, del latte e della bile nella vacca hanno mostrato che il valore delle tre concentrazioni è lo stesso, anche se la concentrazione osmotica del sangue viene modificata artificialmente. Siccome queste esperienze sono state fatte con animali sani, restavano da studiare le concentrazioni in vacche malate. E' stato assodato che nell'uomo, come abbiamo ricordato, certe malattie, sopratutto del cuore e dei reni, provocano nel sangue un forte aumento della pressione osmotica, in conseguenza a disturbi nel metabolismo; e si ricorre al punto di congelazione del sangue per stabilire se uno solo o tutti e due i reni di un paziente sono malati.

L'autore ha adoperato questo metodo per studiare la concentrazione osmotica del sangue in 8 vacche malate di:

tossiemia - costipazione - peritonite cronica con enterite acuta - pielonefrite - perdita di sangue in conseguenza di perforazione del retto - tubercolosi (2 casi) - frattura dell'ilio. A tale scopo egli ha determinato il punto di congelazione del sangue, del latte e, in alcuni casi, anche della bile. Le ricerche hanno mostrato che i punti di congelazione del sangue e del latte non sono modificati dalla malattia. In un solo caso la pressione osmotica del sangue era aumentata in seguito ad intossicazione, ma la pressione osmotica del latte aveva subìto un aumento corrispondente. L'autore menziona in proposito una esperienza fatta da Pliesters con una vacca colpita da carbonchio ematico, che ha dato risultato analogo.

Malgrado il piccolo numero dei casi osservati, l'autore crede che lo stato di malattia può soltanto aumentare, e mai diminuire, l'espressione del punto di congelazione nel sangue della vacca. Tuttavia nella maggior parte dei casi la malattia non eserciterà alcuna influenza sul valore assoluto del punto di congelazione del sangue e del latte. Per la pratica del controllo del latte questo fatto è importantissimo, perchè si cerca spesso di giustificare l'abbassamento del punto di congelazione del latte, dicendo che esso proviene da una vacca malata.

L'autore ha del pari studiato la pressione osmotica del latte ed in alcuni casi anche del sangue in parecchie vacche aventi una mammella malata. La maggior parte degli animali erano colpiti da mastite streptococcica e in due casi soltanto da mastite di natura tubercolare. L'esperienza ha mostrato che il latte era di composizione molto anormale, che non rassomigliava affatto al latte normale. Il lattosio era generalmente scomparso, il tenore in cenere ed in cloro corrispondeva a quello del siero sanguigno (Monvoisin). Eppure, malgrado tutte queste anomalie, il punto di congelazione del latte era sempre normale, ad eccezione di un caso, in cui l'animale era gravemente malato in seguito ad intossicazione. Il sangue delle vacche che davano questo latte aveva un punto di congelazione più basso di quello del sangue di animali sani, ma corrispondeva esattamente a quello del latte. Queste esperienze mostrano dunque che anche le più forti mastiti non possono influire sulla concentrazione osmotica del sangue e del latte nelle vacche.

Il fatto che col progredire della mastite la composizione del latte rassomiglia sempre più a quella del siero sanguigno è stato spiegato coll' ipotesi che il processo della secrezione è a poco a poco sostituito da un processo di filtrazione. In favore di questa ipotesi parla il fatto che il punto di congelazione non è modificato dalla malattia, poichè il prodotto filtrato (latte) ha lo stesso punto di congelazione del sangue della stessa vacca. Partendo dal fatto che le mastiti non modificano l'equilibrio tra la concentrazione osmotica del sangue e quella del latte, l'autore ha arguito che il latte proveniente dai quarti malati deve avere lo stesso punto di congelazione di quello proveniente dai quarti sani. Le esperienze hanno mostrato che tale ipotesi era esatta.

Con un'altra serie di esperienze l'autore ha mostrato che nel caso di mastite la depressione del punto di congelazione del latte non cambia fino a che la malattia non è seguìta da un'intossicazione generale che aumenta la concentrazione osmotica del sangue. Questo fatto sembra essere in contraddizione coi risultati di altri sperimentatori. L'Autore crede che le depressioni osservate da parecchi sperimentatori nel latte proveniente da una mammella malata erano dovute a detriti, ecc., mescolati al latte controllato.

La crema ha lo stesso punto di congelazione del latte magro corrispondente.

La depressione del punto di congelazione, tanto del latte proveniente da mammelle sane, quanto del latte proveniente da mammelle malate, non è mai inferiore a —0°53.

Determinazione della resistenza dei globuli rossi.

La concentrazione molecolare dei globuli rossi, nella loro composizione intracellulare liquida è tale che corrisponde normalmente a quella del plasma, per cui si ha fra esse un perfetto equilibrio isotonico. Questro trova rispondenza esatta in una soluzione di cloruro di sodio al 0,95 °/₀. Tale soluzione di cloruro di sodio è stata anche ultimamente designata, come quella che rispecchia in modo preciso la isotonia del plasma, da diversi autori fra i quali il Chiaria, che

stabilirono aver essa fra l'altro lo stesso punto di congelamento del siero di sangue. Noi possiamo ritenere che tale soluzione è isotonica tanto per il plasma del sangue dell'uomo, quanto per quello del sangue del cavallo e del bue, avendo essi pressapoco lo stesso punto di congelamento.

Immersi dunque in una soluzione fisiologica (di Na Cl al 9,5 °/₀) i globuli rossi non cambiano la loro forma. Se invece la concentrazione del liquido nel quale sono posti si abbassa, diventa cioè ipotonica, una parte dell'acqua, per le leggi dell'osmosi, viene assorbita dai globuli rossi e questi si rigonfiano e perciò fino ad un certo punto permettono e acconsentono un equilibrio osmotico; ma se il liquido ha una concentrazione più bassa ancora, allora per osmosi l'emoglobina fuori esce, passa attraverso lo stroma dei globuli rossi e il liquido assume allora una colorazione rosso-scura.

Nelle soluzioni più concentrate ipertoniche succede il contrario, perchè in questo caso è il liquido intracellulare dei globuli rossi che fuoriesce, questi si raggrinzano, la membrana si lede e il mezzo è tinto in rosso-scuro.

Sul modo di comportarsi dei globuli rossi di fronte alle soluzioni ipotoniche, si basano alcuni metodi per la determinazione della resistenza dei medesimi.

Primo il Duncan in medicina umana osservò che nella clorosi le emazie emolizzano in soluzioni sanguigne nelle quali resistono i globuli rossi normali.

Malasses stabilì invece un vero metodo per lo studio della resistenza globulare, eseguendo a intervalli fissi di tempo numerazioni successive di globuli rossi in soluzione salina di titolo costante. Osservò una curva, secondo la quale in primo tempo un certo numero di emazie subiscono l'emolisi, mentre questa si fa più lenta e si verifica assai più tardi per altre emazie.

Chanel modificò questo metodo ricorrendo a soluzioni saline a titoli differenti; ma entrambi i metodi furono abbandonati, perchè non privi di errori e non pratici, come specialmente dimostrò il Waquez.

Secondo il *metodo di Hamburger* in una serie di tubetti imbutiformi si versano 2 c. c. di una soluzione di cloruro di sodio, la quale in ciascun tubetto aumenta progressivamente

la sua concentrazione del 0,01 °/₀. Si versano in essi con una pipetta graduata 0,05 c. c. di sangue, si mescola bene, si lascia riposare per 15 minuti e si centrifuga. Nei tubetti dove non è avvenuta l'emolisi il liquido si chiarifica l'emolisi si verifica partendo da un tubetto nel quale si notano le prime traccie di pigmento arrivando gradatamente ad un altro nel quale essa appare completa.

Il tubetto precedente al primo contiene la soluzione salina che stabilisce il minimo di resistenza globulare, quello precedente all'ultimo la soluzione salina rappresentante la resistenza massima.

Ribierre prepara una soluzione al 0,5 °/₀ di soluzione salina, ne versa in 18 provettine successivamente 50 goccie nella prima, 48 nella seconda, 46 nella terza ecc.; aggiunge per ciascuna tante goccie di acqua distillata quanto bastano per portare al volume totale di 50 goccie. Ogni provettina riceve 20 mm^3 di sangue. Normalmente l'emolisi avviene nella provettina che contiene 44 goccie di soluzione. I risultati si deducono facilmente. Il Ribierre li rappresenta sotto forma di una curva nella quale le ascisse rappresentano il numero delle goccie della soluzione salina adoperata, le ordinate i gradi dell'emolisi, che sono: lieve, evidente, spiccatissima, completa.

Mosso per ovviare all'inconveniente che ha il metodo di Hamburger di richiedere grandi quantità di sangue propose due metodi: il primo di esaminare il sangue sotto il microscopio in una soluzione al 0,3 °/₀ di Na Cl ed all'1 p. 5000 di violetto di metile, notando il tempo in cui gli eritrociti si alterano e si colorano; il secondo di approntare varie soluzioni di cloruro di sodio successivamente degradanti, e versare in 20 c. c. di ciascuna qualche goccia di sangue aspirato con una pipetta, notando in quale concentrazione il liquido per primo rimane opalescente.

Per il *metodo di Viola* si preparano 24 soluzioni di cloruro di sodio dal 0,20 al 0,68 °/₀, ciascuna delle quali in ragione di 8 c. c. è versata in tubi di vetro, dove si lasciano cadere due goccie di sangue, si mescola rapidamente e si fanno tre osservazioni: una immediata, l'altra dopo tre ore, la terza dopo centrifugazione dei tubi. Da queste tre osser-

vazioni, completate dall'esame microscopico, Viola deduce che per i globuli rossi esistono normalmente tre gradi di resistenza: massima, minima e media. In base ad esse Viola pensa che la maggior parte delle emazie abbiano la resistenza media e sono quelle giunte alla maturità completa; hanno resistenza massima le più giovani provenienti *dagli organi ematopoietici,* minima quelle vecchie, logore, vicine alla morte.

Nelle condizioni patologiche fa due distinzioni: quando le tre resistenze variano armonicamente nello stesso senso in più e in meno (variazioni reali); quando invece variano indipendentemente le une dalle altre (variazioni apparenti). Nel primo caso sono da incriminarsi alterazioni chimiche del plasma; nel secondo caso a seconda che aumenta il grado dell'una o dell'altra delle tre resistenze si tratta o di iperattività degli organi ematopoietici e relativa sovraproduzione di emazie giovani (aumento di resistenza massima) o ad intensificazione dei processi emolitici oppure aumentata ricchezza di emazie vecchie od ancora mancata o diminuita funzionalità degli organi incaricati alla morte di queste (aumento della resistenza minima).

Maragliano studiò la resistenza dei globuli rossi dell'uomo colle sostanze coloranti, colla pressione e con la temperatura. Colle sostanze coloranti il sangue uscendo dalla ferita deve attraversare una goccia di soluzione salina al 0,7 °/₀ e all'1-2 °/₀₀ di violetto di metile in modo che ne avviene un'immediata mescolanza, colla quale si allestisce un preparato microscopico. Se si tratta di sangue normale si ha dopo 25'', colorazione della zona; dopo 30'' sue alterazioni iniziali; dopo un'ora e mezza, alterazioni spiccate; dopo 4 ore, frammentazione.

La *pressione* viene stabilita e graduata comprimendo il sangue tra il vetrino coprioggetti e il portaoggetti, con pesi di piombo perfettamente vagliati, o con vite graduata speciale e si osserva con una pressione di 400 gr.: dopo 10' si hanno già le fasi avanzate della massa centrale, la quale si frammenta sotto una pressione di 700 gr.; a 500 gr. dopo 10' i globuli presentano alla loro periferia la corona di ciglia: a 600 si fanno spinosi, a 750 divengono cuoriformi, a 900 gr. si distruggono.

Con la *temperatura*, adoperando speciali cassette riscaldabili o piccoli termostati speciali, è stato notato che alla temperatura di 50°, dopo 10' si osservano alterazioni cromatiche della zona centrale; dopo 15' alterazioni morfologiche della zona centrale e della periferica; dopo 20' alterazioni morfologiche del globulo in totalità; dopo 30' completa distruzione del globulo. Alla temperatura di 54° dopo 10' si osserva anche la completa distruzione dei globuli.

Lapicque e Vast preparano una serie di soluzioni saline titolate di 4 in 4 cg. di cloruro di sodio a partire dalla concentrazione massima di 0,62 °/₀. In un corrispondente numero di tubi da saggio mettono 10 c. c. di ciascuna soluzione, vi aggiungono 1 c. c. di sangue, centrifugano e per mezzo della colorimetria determinano la proporzione di emoglobina fuoriuscita dallo stroma delle emazie.

Rosenthal invece si serve di soluzioni di citrato di sodio, leggendo i risultati dopo 1 ora e senza centrifugazione.

I varii metodi descritti sono tutti usati nella medicina umana; essi hanno finora trovato scarsa applicazione nella veterinaria, dove forse potrebbero apportare utili ragguagli alla clinica considerando l'interesse che lo studio della resistenza delle emazie sottintende, rappresentando essa il loro « indice vitale ».

Nell'uomo adulto la resistenza globulare massima corrisponde ad una soluzione di cloruro di sodio al 0,44 °/₀, quella minima ad una soluzione al 0,34-36 °/₀. Queste cifre sono un po' inferiori per la donna, il bambino, il vecchio (Chanel, Jona, Viola, Obici, Paris e Salamon, ecc.).

Riguardo alle variazioni della resistenza globulare *per fatti patologici,* in medicina umana è cognizione bene acquisita quella dell'aumento notevole di essa nei carcinomi e negli itteri da stasi. Aumento quest'ultimo che è in rapporto diretto colla gravità dell'ittero ed è in aperta contraddizione col potere fortemente emolizzante dei sali biliari, il quale fenomeno alcune teorie vorrebbero spiegare: secondo alcuni autori i sali biliari in primo tempo distruggerebbero le emazie più fragili, per cui si avrebbe una selezione; secondo altri si avrebbe una specie di adattamento da parte delle emazie all'azione nociva dei sali biliari, che sarebbero come vacci-

nati, da antiemolisine prodottesi e poi fissatesi su esse; secondo altri ancora non va incriminata affatto la presenza di bile nel sangue.

Chauffard e molti altri autori però hanno dimostrato che mentre nell'ittero da stasi la resistenza globulare aumenta essa diminuisce nell'ittero emolitico, rilevando così l'importanza che a questa ricerca va attribuita nelle due forme di ittero.

Negli *stati anemici* dalla maggioranza dei ricercatori fu osservata per lo più diminuzione della resistenza globulare (Maragliano, Castellino, Bielonovsky, ecc.) alcuni però ebbero un aumento sensibile della resistenza (Veyrassat, Courmont e André).

Nelle forme infettive per lo più si ha diminuzione della resistenza. Osservata questa anche nell'emoglobinuria parossistica da Ehrlich, Murri, Vaquez e Marcano, mentre non lo fu da Boisson e Chvostek.

Nella medicina veterinaria lo studio della resistenza dei globuli rossi, possiamo dirlo, ha fatto pochi passi. Servì come base di ricerche fatte da Favero e Varese allo scopo di portare un contributo alla patogenesi dell'anemia nella distomatosi delle pecore, montoni e agnelli; i risultati da tali autori ottenuti furono incostanti e non sufficienti per trarre da essi conclusioni definitive.

Costa e Fayet avevano stabilito che la resistenza normale delle emazie del cavallo è minore di quella dell'uomo e quella del bue è superiore a quella del cavallo e che le variazioni individuali, allo stato fisiologico, oscillano entro limiti assai ristretti, eccettuate quelle legate all'età, poichè gli individui giovani possiedono globuli rossi a resistenza superiore di quella degli adulti e dei vecchi. Secondo questo concetto la resistenza delle emazie può essere artificialmente aumentata sottoponendo un soggetto a ripetute sottrazioni di sangue, per la comparsa in circolo di giovani emazie rigenerate. Ciò si verifica naturalmente negli animali soggetti a ripetute emorragie, sempre però che gli organi emopoietici siano integri e ben funzionanti.

Il Durroux dopo aver fatto osservare che i globuli rossi del cavallo hanno una membrana cellulare più spessa che

non quella dell'uomo, il che si rende evidente specialmente coll'uso delle soluzioni coloranti ipotoniche, afferma che tuttavia la resistenza globulare non è più elevata; difatti secondo l'autore si ha inizio della diffusione nelle soluzioni saline di 0,42 a 0,44 per il sangue totale, di 0,45 a 0,46 per il sangue defibrinato, e la diffusione totale avviene nelle soluzioni da 0,34 a 0,36.

Pasteur Vallery-Radot e Lhéritier ultimamente hanno eseguite ricerche comparative sulla resistenza alle soluzioni saline delle emazie dei mammiferi e nelle dimensioni loro ed hanno osservato un certo parallelismo fra questi due fattori.

I risultati da loro ottenuti per le specie che ci interessano sono: per i cavalli, la media dei diametri delle emazie, pur presentando esse una ineguaglianza marcata, è di μ 6,2 e le cifre di resistenza minima sono comprese fra le soluzioni: 0,54 e 0,58. Per il bue, i cui eritrociti hanno in media il diametro di μ 5,2, ma che presentano variazioni accentuatissime (i grossi globuli misurano μ 6,6 i piccoli μ 4,1) la resistenza minima ha per estremi le cifre 0,58 - 0,68.

Il Magazzari ultimamente richiama l'attenzione sulla opportunità dell'introduzione di questa indagine anche nelle Cliniche Veterinarie. Dopo aver analizzati i diversi metodi applicati dai varii autori in medicina umana ed aver esposte opportune osservazioni sull'importanza della prova, sul significato di essa e sulle teorie che vogliono spiegare il fatto dell'emolisi nelle soluzioni saline, l'autore espone la tecnica da lui impiegata. Prepara soluzioni di cloruro di sodio che partendo dall'1 °/₀ scendono gradualmente fino al 0,35 °/₀, e soluzioni all'1 $^1/_2$ - 2 - 3 °/₀. Defibrinato il sangue, lava le emazie e in una serie di provette, addiziona $^1/_2$ c. c. di sangue a 9 $^1/_2$ c. c. di ciascuna soluzione. L'esame dei tubi è fatto dopo sei ore.

Le ricerche del Magazzari si esplicarono sopra 28 cavalli di età variabile dai 5 ai 14 anni circa, esenti tutti da malattie febbrili e da processi morbosi cronici esaurienti. I risultati sono raccolti in apposita tabella, alla quale l'autore fa seguire interessanti considerazioni, fra le quali ricordiamo le seguenti: la resistenza globulare nei soggetti presi in esame

si è manifestata entro limiti rappresentati dalle soluzioni 0,70 e 1,5 °/₀. La grande maggioranza delle emazie resiste a soluzioni maggiormente ipertoniche. Le emazie meno resistenti, appartenevano, secondo le ricerche dell'autore, agli animali più vecchi. Le esperienze intraprese per stabilire la resistenza globulare durante il decorso di alcune malattie, poterono essere espletate in un numero troppo scarso di casi. Il Magazzari ritiene che molta importanza questa indagine potrebbe assumere nei riguardi specialmente della prognosi.

Ancora il Magazzari nella descrizione clinica di un caso di anasarca riferisce, fra le altre ricerche sperimentali eseguite, i risultati ottenuti dallo studio della resistenza globulare nel cavallo affetto da tale forma morbosa. Non rilevò grandi differenze nel comportamento delle emazie rispetto alle soluzioni ipotoniche, mentre esse sarebbero meno resistenti di fronte a quelle ipertoniche.

La malattia ebbe esito favorevole e al primo esame la resistenza massima è più intensa che non nei successivi. L'autore interpreta tale fatto come dovuto alla comparsa in circolo di emazie giovani ed in rapporto al sensibile aumento quantitativo di esse osservato e probabilmente col graduale accumulo in circolo di sostanze tossiche ad azione emolitica.

PARTE SECONDA

Metodi d'esame chimici

La reazione del sangue.

La reazione del sangue è alcalina. Tale alcalinità è dovuta essenzialmente alla presenza di carbonato di sodio, di fosfato di sodio e di alcali terrosi, ma anche secondo H. Cabbé a delle basi ammoniacali o alcaloidi (materie estrattive) di cui la presenza costante è ben conosciuta nel sangue. Secondo *Lowy e Zuntz* concorrono a stabilirla due ordini di fattori, gli uni corrispondono ai sali diffusibili che reagiscono alcalini, gli altri ai corpi albuminoidi che fissano acidi.

Per la determinazione del grado di alcalinità del sangue, che può oscillare in condizioni patologiche, sono stati suggeriti molti metodi, alcuni dei quali, per la loro tecnica troppo complicata, non sono affatto pratici. Ciò vale anzitutto per il metodo dell'estrazione dell'anidride carbonica, fondato sulla premessa che la maggior parte dell'anidride carbonica è legata ad alcali e che quindi fra il contenuto di anidride carbonica e quello di alcali esiste un rapporto proporzionale (Walter, Krauss).

Un po' più semplici sono i metodi di titolazione del grado di alcalinità. Essi sono basati sul principio di saturare l'alcalinità apparente del sangue con una soluzione acida titolata e valutare quella calcolando la quantità di acido impiegata. Secondo ogni metodo variano: la tecnica, l'acido usato, la quantità di sangue necessaria, il reattivo indicatore impiegato.

4

Furono usati: l'acido fosforico (Zuntz); l'acido tartarico (Lassar, Lépine, Landois, Loewy, Hamburger); l'acido ossalico (Lépine, Drouin); l'acido acetico (Lépine e Martz); l'acido solforico (Rigler); l'acido cloridrico (Lumière). Sono stati scelti come indicatori: la tintura o la carta di tornasole; la fenolftaleina; il lacmoide; l'acido rosolico; il metodo iodometrico ecc.

Di tutti questi metodi, alcuni che sembrano più pratici e applicabili nella clinica, meritano una breve descrizione:

Metodo di Landois-Jaksch. — Si sciolgono gr. 750 di acido tartarico purissimo in un litro d'acqua distillata che viene a corrispondere a una soluzione decinormale di acido tartarico. Con questa, diluendo proporzionatamente, si ottiene una soluzione al centesimo ed una al millesimo.

Indi in 18 vetrini da orologio si versano quantità discendenti progressivamente delle due soluzioni tali da far si che l'acidità per ogni vetrino diminuisca gradatamente e si aggiungano invece quantità crescenti di soluzione concentrata di sale di Glauber in modo che in ogni vetrino si ottenga una quantità costante di liquido.

Schematicamente per ciascun dei primi 9 vetrini:

soluzione acido acetico 1/100 c. c. 0,9; 0,8; . . . 0,2; 0,1
soluzione conc. sale Glauber c. c. 0,1; 0,2; . . . 0,8; 0,9

e per ciascuno degli altri nove:

soluzione acido acetico 1/1000 c. c. 0,9; 0,8; . . . 0,2; 0,1
soluzione conc. sale di Glauber c. c. 0,1; 0,2; . . . 0,8; 0,9

In ognuno dei 18 vetrini si lascia cadere 0,1 c. c. di sangue, si agita con una bacchetta di vetro, e con la carta di tornasole si saggia la reazione dei varii vetrini, fino ad avere reazione neutra.

La soluzione di sale di Glauber conserva intatti i globuli rossi, e il tornasole ha il vantaggio che non indica come acido l'acido carbonico.

Supponiamo che la reazione neutra si abbia nel vetrino da orologio, che conteneva 0,8 c. c. di soluzione centinormale di acido tartarico. Sapendo che c. c. 1 di soluzione centinor-

male di acido tartarico corrisponde a 0,0004 di idrato di soda (e quindi 0,1 c. c. corrisponde a 0,00004) ne deriva che 0,8 $\times$ 0,00004 = 0,00032 di NaOH, corrispondente a 0,1 c. c. di sangue; quindi avremo per 1 c. c. di sangue 0,0032, e per 100 c. c. di sangue 0,320; per cui l'acidità di questo sangue sarebbe valutata 0,320 % di NaOH.

Metodo di Rigler. — Si versa una certa quantità di sangue in un palloncino contenente 10 c. c. d'alcool assolito. La mescolanza dell'alcool al sangue non modifica la sua alcalinità. Si pesa prima e dopo l'aggiunta di sangue il palloncino onde avere il peso esatto del sangue aggiunto. Nell'alcool assoluto il sangue coagula; lo si lascia in riposo per mezz'ora poi si aggiungono 10 c. c. di acqua distillata; si agita e si lascia riposare per altra mezz'ora. In tale modo il sangue trasmette all'alcool diluito una reazione alcalina.

Si versa allora goccia a goccia una soluzione di acido solforico titolata al 50 ‰; dopo ogni goccia si assaggia la reazione con carta al tornasole rossa; quando essa non assume più colorazione bleu, vuol dire che la soluzione alcoolica è neutralizzata.

È facile dalla quantità di soluzione acida impiegata dedurre il valore della alcalinità del sangue in esame.

Metodo di Drouin. — Si preparano una soluzione di acido ossalico al 2,1 ‰ ed una di solfato di soda al 10 ‰.

In una serie di vetrini da orologio si versano da destra a sinistra delle quantità crescenti d'acido ossalico e decrescenti di solfato di soda, in modo d'avere uno stesso volume totale:

Soluzione d'acido ossalico	10 goccie,	9 goccie	.	1 goccia
» di solfato di soda	1 »	2 »	.	10 »

Il sangue, raccolto con una pipetta graduata, è versato in un volume noto di una soluzione di solfato di soda onde impedire la coagulazione ed è ripartito ugualmente, e nella stessa quantità, in ciascun vetrino. Per ciascuno si saggia contemporaneamente alla carta di tornasole neutra: i vetrini di destra rendono azzurro il tornasole, quelli di sinistra lo arrossano; fra essi uno manterrà reazione neutra, la quantità

d'acido contenuta rappresenta l'alcalinità del volume di sangue deposto.

Gautelet ha leggermente modificata la tecnica di Drouin in modo di dare al metodo maggior sensibilità. Egli ha eseguito un lavoro completo e ben condotto nell'alcalinità del sangue nell'uomo e negli animali.

Metodo Löwy-Engel. — Löwy ha proposto di rendere il sangue, prima della titolazione, color lacca, mercè la dissoluzione dei globuli rossi, affinchè essi pure entrino nella reazione, essendo provvisti di un certo grado di alcali. Engel ha così modificato il metodo: colla pipetta capillare, annessa al suo *alcalimetro*, si aspira una grossa goccia di sangue fino al segno 0,05 e poi acqua distillata fino al segno 5,0. Si agita bene indi in un bicchiere a calice si titola questa miscela con acido tartarico 1/75 normale (1 gr. di acido tartarico in un litro), facendo cadere questo a goccia a goccia da una buretta divisa in centesimi di centimetro cubico, La reazione finale viene determinata saggiando con una bacchetta di vetro dopo l'aggiunta di ogni goccia, su carta lacmoide chiara, e precisando il momento in cui la goccia gialliccia di emoglobina mostra al suo orlo una netta linea rossa.

Altri metodi più complicati sono:

Il metodo di Lumiére (basato sull'iodometria).

Il metodo di Brandenburg (determina l'alcali diffusibile attraverso ad una membrana; è metodo molto complicato).

Il metodo di Dare (Si propone di misurare l'alcalinità dalla quantità di acido tartarico necessaria per far sparire le due linee spettroscopiche dell'ossiemoglobina).

Il metodo elettrico di Henri (E' basato sull'impiego dell'idrolisi, è un metodo assai brigoso).

Il metodo di Salkowski (Si dosa, mettendola in libertà, l'ammoniaca contenuta negli alcali del sangue).

Il metodo di Hamburger (Determina la dose di alcali diffusibile nel sangue).

Il metodo di Friedenthal-Schultz (Si basa sulla determinazione della concentrazione in joni nel sangue).

È bene tener presente che tanto i metodi descritti quanto questi enunciati non vanno esenti da critica. Però i primi

sono quelli che danno risultati più attendibili o per lo meno sono più facilmente eseguibili.

Fisiologicamente nell'uomo l'alcalinità è rappresentata per 100 c. c. di sangue da milligrammi di soda, che si aggirano, secondo i varii sperimentatori, fra gli estremi di 182 a 800. Il sangue arterioso è un poco più alcalino del sangue venoso.

Per il sangue di cavallo il Loewy si limita ad osservare che esso è alcalino, ma che i globuli contengono più alcali che non il siero. La proporzione d' alcali non diffusibile in rapporto all'alcali diffusibile è, secondo Hamburger, più forte nei globuli che non nel siero. Hamburger ha potuto stabilire la tavola seguente:

	In °/₀ di alcalinità totale	
	Alcali diffusibile	Alcali non diffusibile
Siero normale di cavallo . .	37	63
Carico di CO^2	49	51
Sangue totale normale di cavallo	25,1	74,9
Sedimento globulare . . .	10,6	89,3

L'alcalinità del sangue varia coll'età, aumenta durante la digestione (ciò che avviene anche per l'urina per il richiamo dei principii acidi necessarii alla secrezione di succhi gastrici), diminuisce dopo un lavoro muscolare faticoso, in rapporto probabilmente all'iperproduzione di acido lattico nei muscoli.

Patologicamente importanti sono le oscillazioni che subisce la reazione alcalina del sangue.

Si può dire che nelle malattie infettive e nelle intossicazioni ben definite esiste un rapporto fra reazione del sangue e resistenza dell'organismo.

Lo dimostrano le seguenti considerazioni: Fodor stabilisce che trattando degli animali con carbonato di soda e potassa, il siero di questi è più fortemente battericida *in vitro* che non quello degli animali non trattati, ed i primi acquistano maggior resistenza all'infezione carbonchiosa. Belvring attribuisce l'immunità naturale pel carbonchio dei ratti bianchi

alla forte alcalinità del loro sangue. Roux e Nocard, Arloing, Cornevin e Thomas, Boschetti dànno pure grande importanza all'alcalinità del sangue nella resistenza all'infezione. Questa, assieme al valore alcalino del sangue, è vista diminuire da Zagari nell'alcoolismo e nella fatica.

Si può anche ammettere che le infezioni e intossicazioni acute diminuiscono l'alcalinità del sangue in maniera passeggera se l'infezione o l'intossicazione è curabile, in maniera progressiva se è mortale (Fodor).

Esiste inoltre un certo parallelismo fra grado di alcalinità del sangue e stato d'immunità dell'animale. Mentre che i microbi e le tossine diminuiscono costantemente e progressivamente, fino alla morte, l'acalinità del sangue, questa aumenta collo stabilirsi di uno stato immunitario negli animali; così in quelli immunizzati contro il carbonchio o la difterite (Calabrese); in quelli trattati coi sieri antibatterici (Calabrese, Cantani) o con vaccini o antitossine (Fodor e Rigler). E l'aumento è passeggero nell'immunizzazione passiva, duraturo invece nell'immunizzazione attiva.

Come le tossine anche sostanze chimiche: fosforo, acido picrico, pilocarpina, atropina, ecc. riducono il grado alcalino del sangue (Rigler).

Oltre queste constatazioni generali vanno richiamate alcune delle osservazioni cliniche fatte nell'uomo, perchè possono trovare correlazione nella semeiotica del sangue del cavallo e del bue.

L' alcalinità diminuisce negli stati febbrili (Peiper, Rumpf, Kraus ecc.) nel cancro, (Mello) nel reumatismo cronico, nelle cachessie, leucemie, anemie ecc.

Per le sue applicazioni pratiche si consideri che pure in medicina umana i risultati furono ottenuti dallo studio della reazione del sangue, non sono ancora tali, da poter vedere in essi un valido mezzo alle investigazioni cliniche, perciò fino a che un metodo semplice, rapido, pratico e nel contempo esatto e sicuro non si sia imposto, non vediamo l'oppurtunità di insistere perchè nella semeiotica veterinaria si ricorra con frequenza a questa indagine, la cui importanza però sarebbe considerevole.

Alterazioni chimiche dell'emoglobina. Spettroscopia del sangue.

Per quanto la spettroscopia sia un metodo fisico d'esame e non chimico, abbiamo preferito riferirne in questa parte del nostro lavoro, perchè esso è incaricato di mettere in evidenza alterazioni chimiche dell'emoglobina e perchè talvolta è necessario provocare noi queste alterazioni, per rendere più chiari i risultati.

Il colore rosso chiaro del sangue arterioso è dovuto, come è noto, al suo grande contenuto di ossiemoglobina; il sangue venoso che ne è più povero, e contiene invece carbossiemoglobina, è invece più scuro. Si ha nella spetroscopia un mezzo utile per stabilire le alterazioni chimiche dell'emoglobina.

Si prepara una diluzione del sangue con 10-100 parti di acqua, eventualmente può essere esaminato il siero reso limpido mediante filtrazione. La soluzione del sangue si tiene in una provetta o in una cassettina di vetro, in un piano parallelo dinanzi alla fessura dello spettroscopio; anche essa deve essere filtrata in modo da apparire perfettamente limpida. Spostando il tubo interno dello spettroscopio, coll'apposita vite si giunge a portarlo al punto preciso al quale si scorgono bene le linee di Frauenhofer dello spettro solare.

L'ossiemoglobina (1) presenta una stria di assorbimento nel giallo alla linea *D* e nel verde alla linea *E*. Una concentrazione più forte della soluzione di ossiemoglobina fa diventare le linee più larghe così che esse si avvicinano fra di loro.

---

(1) MORAT e DOYON nel loro *Trattato di fisiologia* hanno riunito in una tavola le analisi elementari dell'ossiemoglobina del cavallo:

C	H	Az	S	Fe	O	
54,87	6,97	17,31	0,65	0,47	19,73	(Hoppe Seyler e Kossel).
54,50	7,29	17,51	0,44	0,393	19,85	(J. Jutte).
54,40	7,20	17,61	0,65	0,47	19,67	(Bücheler).
54,76	7,03	17,28	0,67	0,45	18,81	(Otto).
51,15	6,76	17,94	0,39	0,34	23,43	(Zinoffski).
54,64	7,09	17,38	0,39	0,40	20,16	(Osborne).

L'emoglobina ridotta è caratterizzata da una larga stria, unica, un po' diffusa, più oscura al centro che ai bordi situata fra le linee *D* ed *E*, lievemente oltrepassante la linea *D* verso sinistra, più o meno larga secondo la proporzione di questa sostanza nel sangue. Aggiungendo un po' di soluzione di solfato di ammonio si forma l'emoglobina ridotta.

L'ematina si forma colla separazione dell'emicromogeno dall'emoglobina, per l'assorbimento di ossigeno dovuto alla azione degli acidi o degli alcali. In soluzione acida o neutra essa presenta quattro strie di assorbimento, una tra *C* e *D*, e tre, più deboli, tra *D* ed *E*; in soluzione alcalina essa presenta una stria a sinistra di *D* ed un oscuramento dell'estremo violetto.

Nell'*ematina ridotta* (*emocromogeno*), che si forma coll'aggiunta di solfato di ammonio, la stria in *D* sparisce e si presentano invece due strie tra *D* ed *E* e vicino ad *E* L'ematina si riscontra accidentalmente nei vecchi focolai emorragici, nelle cisti, in certi tumori e più spesso nell'urina.

La *metaemoglobina*, che si riconosce macroscopicamente per la colorazione bruna (scuro-cioccolatto) che assume il siero limpido, presenta in soluzione alcalina una stria stretta sul giallo in *D* ed un'altra stria nel verde-giallo e nel verde; in soluzione acida e neutra essa presenta una stria vicino a *C* nel giallo ed altre strie nel giallo in *D*, nel giallo-verde ed una più larga nel verde fra *B* ed *F*. Aggiungendo solfato di ammonio, si presenta prima lo spettro dell'ossiemoglobina e poi dell'emoglobina ridotta. Artificialmente si può ottenere la metaemoglobina aggiungendo a una soluzione allungata di sangue un paio di goccie di una soluzione di ferro cianuro potassico o di nitrito di sodio. La metaemoglobina si forma nel sangue in diversi avvelenamenti (clorato di potassio, nitriti, anilina, ecc.).

La *carbossiemoglobina*, che si forma nel sangue nell'avvelenamento da ossido di carbonio e che si riconosce macroscopicamente per la colorazione rosso ciliegia del sangue, possiede uno spettro identico a quello dell'ossiemoglobina, e se ne distingue soltanto per il fatto che, aggiungendo del solfato di ammonio, non ha luogo nessuna riduzione.

La *solfoemoglobina*, combinazione dell'emoglobina con H^2S, è stata osservata nell'uomo nei rari casi della cosidetta

cianosi enterogena, nei quali l'organismo assorbe acido solfidrico dal contenuto intestinale. Lo spettro della solfoemoglobina è molto simile a quello della metaemoglobina e solo con misurazioni possibili è possibile riconoscere che la caratteristica striscia del rosso non ha la stessa posizione.

Nel caso della solfoemoglobina con l'aggiunta del solfuro d'ammonio questa striscia non compare; in luogo delle due striscie dell'ossiemoglobina compare quella della emoglobina ridotta.

L'*ematoporfirina* si ottiene trattando l'ematina coll'acido solforico; essa possiede uno spettro generalmente sfumato, formato da due strie: l'una stretta e poco colorata a sinistra di *D*, e l'altra occupante più del terzo medio dello spazio fra *D* ed *E*, separate l'una dall'altra da uno spazio giallo quasi tanto largo quanto la prima stria. Questo in soluzione acida, in soluzione alcalina invece lo spettro dell'ematoporfirina è composto da quattro strie: una sottile fra *C* e *D*, due *D* e *E* una larga a contatto con *D*, una stretta a contatto con *E*, la quarta fra *E* ed *F*, oltrepassante in parte la *F*.

Per scopi clinici la spettroscopia può essere eseguita collo spettroscopio tascabile: si dirige dapprima questo verso il cielo evitando i raggi solari e quando si scorgono nettamente due spettri vicini si restringe la fessura per la quale penetra la luce finchè si mostrano le strie Fraunhofer. Indi si pone il recipiente di vetro pieno della soluzione di sangue davanti allo spettroscopio, facendo attenzione a che il punto di mezzo del tubetto si trovi davanti alla fessura e che lo spettroscopio possibilmente non sia mosso. Paragonando allora quello dell'emoglobina collo spettro di paragone si può, secondo la nettezza delle strie, allungare la soluzione o renderla più concentrata aggiungendo qualche goccia di sangue. È bene sempre confrontare con una soluzione di confronto con sangue normale. Le striscie dell'ossiemoglobina e della metaemoglobina possono essere messe in evidenza anche nel siero di sangue prelevato in quelle affezioni (emoglobinuria parossistica, febbri malariche, avvelenamenti, ecc.) nelle quali l'emoglobina esce dai corpuscoli rossi e si scioglie nel plasma.

In questo paragrafo della spettroscopia del sangue è bene ricordare anche lo spettro dell'urobilina e dei pigmenti biliari.

L'urobilina si riconosce per la presenza di una linea di assorbimento all'inizio del bleu un poco a destra della linea *F*. Se l'urobilina è associata a dei pigmenti biliari, la messa in evidenza della sua linea di assorbimento è resa impossibile perchè la bilirubina produce un offuscamento di tutta la parte destra dello spettro dal bleu al violetto. Bisogna allora separare l'urobilina dai pigmenti biliari. Per ciò, si versa dell'acqua distillata nella provetta al disopra del siero, molto lentamente e lasciando colare l'acqua lungo le pareti, in modo che l'acqua e il siero non si mescolino; allora l'urobilina più diffusibile dei pigmenti biliari, passa nell'acqua ed al livello di essa si può riscontrare il suo spettro caratteristico, mentre che quello dei pigmenti biliari si vede al disotto. La stria dell'urobilina è resa più apparente se, invece di acqua distillata semplice, si versa un po' d'acqua iodata alla superficie del siero.

È bene ricordare che lo spettro della bilirubina non è caratteristico dei pigmenti biliari, appartenendo esso a tutti i pigmenti e a tutte le sostanze coloranti.

Cristalli del sangue.

L'emoglobina e i suoi derivati, messisi in libertà, dopo la distruzione del corpuscolo rosso cristallizzano. Diversi sono i metodi coi quali noi possiamo ottenere tale cristallizzazione: quelli chimici piuttosto complicati; l'applicazione di un modello speciale dell'ematoscopio di Hénocque; ma il più semplice è il seguente: si lascia cadere una goccia di sangue defibrinato su un vetrino portaoggetti, la si lascia evaporare finchè si sia formato un anello esterno secco, si aggiunge allora una goccia d'acqua e si ricopre con vetrino coprioggetti, si lascia omogeneizzare e si constata al microscopio l'avvenuta distruzione dei globuli rossi e la formazione di cristalli. Se il sangue è raccolto da animali sani in vita non si osservano che cristalli di ossiemoglobina, se dopo morte cristalli d'emoglobina ridotta. I primi, secondo Kölliker si presentano sotto forma di piccoli bastoncini prismatici isolati o riuniti a τ a γ, a stella, ad ammassi d'aghi.

Trattando il sangue disseccato con cloruro di sodio ed acido acetico si ottengono i cristalli di emina che si presentano in forma romboedrica, di colore che varia dal caffè chiaro al rosso bruno.

Nei vecchi focolai emorragici si riscontrano cristalli di ematoidina.

Nei leucemici si osservano cristalli di tirosina ottaedrici e dei cristalli di leucina, incolori, rifrangenti, d'aspetto radiato. La tirosina e la leucina si formano in diversi stati patologici (leucemia, ittero grave, vaiolo, morva, intossicazione da fosforo, ecc.), ove le diminuite ossidazioni impediscono la trasformazione completa degli albuminoidi in urea, ma è solo nella leucemia che la loro abbondante presenza nel sangue dà origine a cristalli di esse.

Determinazione del contenuto in albumina e in azoto.

L'albumina contenuta nel siero di sangue può essere determinata quantitativamente in due modi:

1° Si addiziona una parte di siero con tre di acqua distillata e nella diluizione ottenuta viene titolata l'albumina col metodo di Esbach. Moltiplicando per quattro la cifra ottenuta si ottiene la percentuale di albumina per mille. È però un metodo molto inesatto e risponde meglio quest'altro:

2° Si prendono ad esempio 25 c.c. di siero filtrato, vi si aggiungono alcune goccie di acido acetico e si fanno bollire a bagno-maria per 10'; il precipitato che si è formato è raccolto sopra un filtro tarato e lavato all'acido; poi questo è lavato successivamente con acqua bollente, con acqua acidulata, coll'alcool e coll'etere. Infine il precipitato è lasciato essicare ed è pesato.

La quantità di albumina del siero di sangue diminuisce in proporzioni talvolta considerevoli, fino a circa la metà, nelle forme di nefriti parenchimatose.

La maggior parte dell'azoto del sangue è contenuto nelle sostanze proteiche, una piccola parte (il cosidetto azoto residuo) corrisponde all'urea, all'acido urico, all'ammoniaca, alle materie estrattive. La quantità totale d'azoto è determinata

dal metodo di Kyeldahl, in uso nelle ricerche dell'urina. Conoscendo questa e la percentuale di azoto residuo, si può stabilire la quantità di albumina contenuta nel siero moltiplicando la differenza delle due prime quantità per il coefficiente 6,25.

Secondo Huber il siero di cavallo contiene l'8,4 °/₀ di albumina, stabilita secondo il metodo di Kyeldahl. Il siero di cavallo contiene 0,023 — 0,505 di urea, secondo le ricerche di Schöndorff.

Determinazione dello zucchero nel sangue.

Lo zucchero normale del sangue, il destrosio, può essere determinato qualitativamente, dopo aver ottenuta la dealbuminazione del sangue stesso, mediante tutti i mezzi in uso nelle ricerche urologiche; la determinazione quantitativa può essere stabilita mediante la titolazione ò mediante la polarizzazione. Per ottenere la dealbuminizzazione si procede, secondo Michaelis e Roux, nel modo seguente:

5 c.c. di sangue defibrinato vengono posti in un piccolo palloncino con tappo di vetro esattamente pesato, si aggiungono 35 c.c. di idrossido di ferro colloidale (liquore di ossido di ferro dializzato) e 10 c.c. di una soluzione saturati a freddo di solfato di soda. Con questa aggiunta si porta il liquido al volume esatto di 50 c.c. Dopo aver agitato immediatamente la miscela per un breve tempo, si filtra e si ottengono in tal modo 30-35 c.c. di un liquido filtrato, limpido come l'acqua, incoloro, privo di albumina e di ferro, sul quale coi noti mezzi si possono eseguire le opportune ricerche dello zucchero.

Cl. Bernard per dealbuminizzare il sangue consiglia semplicemente di addizionarlo con una quantità di sale di Glauber uguale al suo peso, bollire la miscela e filtrarla. Pavy mescola il sangue in una quantità 20 volte maggiore di alcool assoluto, filtra, fa evaporare il filtrato fino a raggiungere la massima secchezza, scioglie il residuo in una quantità di acqua distillata uguale alla quantità di sangue adoperata e ottiene una soluzione acquosa nella quale è contenuto lo zucchero di quel quantitativo di sangue.

Il dosaggio dello zucchero è molto delicato: va fatto con tutta sollecitudine, perchè lo zucchero si distrugge molto presto nel sangue. Accenniamo appena a quelli che sono i metodi più comuni di titolazione.

1° Quello fondato sull'uso del liquore di Fehling titolato. Dalla quantità di liquido impiegata si deduce con un calcolo semplice la quantità di glucosio. Alcuni autori considerano più esatto pesare direttamente l'ossidulo di rame precipitato: si raccoglie questo colla precipitazione, lo si essica e lo si pesa.

2° Nel liquido dealbuminizzato, lo zucchero può essere titolato col polarimetro. Nel tubo di questo si versano 20 cc. di liquido e si legge sulla scala saccarimetrica dello strumento la deviazione osservata; il risultato lo si riporta alla tavola annessa all'apparecchio, e si ottiene direttamente la quantità di glucosio p. 1000.

3° Si può anche dosare lo zucchero allo stato di glucosio-fenilidrazone: vien fatta una soluzione con gr. 0,50 di fenilidrazina, gr. 1,5 di acetato di sodio, e cc. 6 d'acqua, poi riscaldati dolcemente 5 cc. del filtrato sprovvisto d'albumina essi sono aggiunti ad egual volume della soluzione. La miscela e posta in un tubo riempito a metà d'acqua, si riscalda una mezz'ora a bagno-maria e si raffredda.

Al microscopio allora si osservano i cristalli gialli caratteristici di fenilglucosazone mescolati ai cristalli incolori del solfato di soda; si può raccoglierli sopra un filtro, seccarli e pesarli. Si deduce la percentuale in glucosio moltiplicando i pesi trovati per il coefficiente 0,666.

Questi ed altri metodi sono più estesamente descritti in ogni trattato di semeiotica delle urine.

La quantità normale di zucchero nel sangue è nel cavallo 0,52 — 0,90 ‰, nel bue 0,70 — 0,68 ‰ (Bottazzi).

Nel cavallo, secondo Abderhalden 1000 parti in peso di siero contengono zucchero da 1,176 a 1,49; invece 1000 parti in peso di sangue estratto per salasso copioso (mescolanza di sangue arterioso e sangue venoso) contengono da 0,526 a 0,900.

Le ricerche da noi fatte per stabilire il contenuto di zucchero nel cavallo e nel bue ci hanno persuaso della difficoltà che esiste, anche impiegando i varî metodi, nel compiere la

dealbuminizzazione del sangue, perchè noi avremmo ottenuto risultati diversi a seconda che si impiegava l' uno o l' altro metodo, e perciò detti risultati non li abbiamo ritenuti attendibili. È vero che gli autori raccomandano la massima sollecitudine nell'effettuare detta operazione, perchè lo zucchero scompare presto dal sangue, e forse questo fatto doveva incriminarsi nelle nostre esperienze, ad ogni modo questa ricerca che potrà avere importanza nei vari casi di diabete del cavallo e del bue, la riteniamo assai delicata.

Nelle condizioni patologiche la proporzione del glucosio può essere modificata: nell'uremia il sangue è quasi del tutto sprovvisto di zucchero, mentre in altre affezioni il tenore di esso è aumentato così nell'iperglicemia, nel cancro, nella tubercolosi avanzata e talvolta in alcune infezioni acute, nelle quali può aversi anche glicosuria. In un caso del diabete del cavallo il Preller constatò un aumento di zucchero nel sangue fino al 5,21 °/₀₀.

Determinazione del residuo secco.

Per la determinazione del residuo secco del sangue in una capsula a chiusura ermetica e di peso noto si lasciano cadere alcuni c.c. di sangue. Si pesa questa subito e dopo averla lasciata evaporare in un'essicatore finchè tutta la parte liquida sia evaporata. La differenza dei due pesi ci dà il residuo secco che nel cavallo normale è di circa 33,8 °/₀ e nel bue 24,9 °/₀ (Bottazzi). Secondo le esperienze di Sabrazès, Muratet e Durroux, nel cavallo il residuo secco sarebbe 18.8842 °/₀.

Il residuo secco diminuisce nelle anemie croniche, dove accumula all'opposto la quantità d'acqua.

Esso cresce invece nella leucemia per l'aumento nel numero dei leucociti.

Determinazione del grasso.

Traccie di grasso, o di corpi simili al grasso, si trovano normalmente nel sangue, in parte in combinazione eterea coll'albuminoide, in parte liberi.

Esso (durante la digestione) può aumentare patologicamente di quantità, ad esempio nell'avvelenamento acuto da

fosforo e specialmente nel diabete mellito (lipemia). Quando la percentuale in grasso del sangue è notevole, si osserva alla superficie di sangue raccolto da breve tempo una colorazione biancastra e si forma una specie di appannamento; se la quantità è maggiore, si ha la separazione di un vero strato bianco di grasso, che sta alla superficie o lungo le pareti del vaso contenente il sangue; inoltre è tanto più torbido e pallido del consueto il siero, quanto maggiore è il grasso contenuto.

La ricerca del grasso si può fare al microscopio, dove si osservano granuli finissimi, che coll'acido osmico si colorano in nero, col Sudan III (Rieder) in rosso, coll'etere e cogli alcali si sciolgono. Tali granuli finissimi, piccoli quànto i più piccoli batteri, vanno sotto il nome emocomi o pulviscoli del sangue, che non tutti però sono costituiti da grasso e sulla loro natura si è tuttora molto incerti. Alcuni assumono anche colorazione nucleare e si sono creduti derivati da granulazioni dei leucociti.

Per fare una determinazione esatta del grasso, è necessario ricercarne il punto di fusione, il grado di saponificazione, di acidità, di combinabilità coll'iodio, la determinazione di Reichert-Meissl ed il valore acetilico; ma di tutte queste prove complesse e richiedenti strumenti necessarii, non ci sembra doverne parlare.

Secondo Abderhalden, 1000 parti in peso di siero di cavallo contengono grassi nella proporzione di 1,300-0,834; invece 1000 parti in peso di sangue estratto per salasso copioso (mescolanza di sangue arterioso e sangue venoso) ne contengono 0,611-0,534.

Il sangue negli avvelenamenti per ossido di carbonio.

Nel paragrafo sulla spettroscopia è detto dello spettro caratteristico della carbossiemoglobina, che si forma nel sangue nell'avvelenamento da ossido di carbonio. Macroscopicamente questo può essere il più delle volte sospettato per la caratteristica colorazione del sangue rosso ciliegia più o meno in-

tensa e per la quasi scomparsa differenza di colorito fra sangue venoso e arterioso.

Inoltre vengono in aiuto della clinica due prove chimiche, che è opportuno accompagnare all'esame spettroscopico e che come queste riescono specialmente vantaggiose avendo la cautela di controllare con sangue normale.

Colla prima prova si sciolgono alcuni c.c. di sangue puro, o leggermente diluito, con una soluzione di soda o potassa caustica al 10 % e si riscaldano dolcemente. Essendovi ossido di carbonio, la miscela si colora in un bel rosso vivo, mentre il sangue normale dà un colorito verde-bruno sporco; è necessario però che l'ossido di carbonio sia presente in quantità considerevole.

La seconda prova fu proposta da Horszkiewicz e Max: si mescolano due parti di sangue con quattro parti di una soluzione all'8 % di cloridrato di chinina, si riscalda dolcemente fino all'inizio dell'ebollizione, si lascia raffreddare tanto da poter agitare senza bruciarsi, si versano 2-3 goccie di solfuro d'ammonio assolutamente fresco e si agita subito fortemente.

Il sangue che contiene ossido di carbonio dà una tinta rossa splendente, come il carminio, mentre quello normale dà una tinta grigio-bruna sporca.

Constatazione dell'emoglobina nel siero di sangue.

In numerose affezioni (emoglobinuria parossistica, piroplasmosi, intossicazioni, avvelenamenti, ecc.) l'emoglobina esce dai corpuscoli rossi e si scioglie nel plasma. L'emoglobina disciolta è emessa in parte attraverso i reni come emoglobina o metemoglobina, l'altra parte è trasformata dal fegato in pigmenti biliari. Clinicamente si mette in evidenza l'avvenuta distruzione dei corpuscoli rossi, lasciando in riposo a freddo per alcune ore del sangue estratto da un vaso: allora il siero, che normalmente è giallo, assume un color rubino o rosso-bruno per la presenza di ossiemoglobina o di metaemoglobina ed all'esame spettroscopico si osservano le strie caratteristiche dell'una o dell'altra sostanza.

L'osservazione del suaccennato colorito del siero non è sufficiente per la diagnosi, qualora il siero non sia limpido, nel qual caso si tratta di globuli rossi rimasti in sospensione.

Determinazione del ferro.

Il ferro contenuto nel sangue proviene in gran parte dall'emoglobina ed è soggetto, press'a poco, alle stessse oscillazioni di questa. La percentuale di ferro può essere determinata nel modo seguente: 50-100 c.c. di sangue sono essicati e calcinati; si trattano le ceneri coll'acido cloridrito diluito; il liquido così ottenuto è ridotto dallo zinco e in esso si dosa il ferro volumetricamente con una soluzione titolata di permanganato di potassio.

Usando il metodo di Lapique, bastano piccole quantità di sangue (2 gr.) che si riscaldano con una miscela solforico-nitrica, poi si trasforma il liquido in solfocianato ferrico di cui si apprezza il contenuto in metallo, esaminando l'intensità colorimetrica. Sull'esame di questa è appunto basato anche il principio del metodo di Jolles, nel quale le ceneri di due gr. di sangue sono trattate con bisolfato di potassio, solfocianuro d'ammonio e acido cloridrico.

Questi due metodi comportano un errore di almeno il 2 %. La cifra ottenuta, moltiplicata per 300 che corrisponde a una ricchezza media di 0,33 %, ci dà il tenore in emoglobina del sangue in esame.

Acido urico nel sangue.

Garrod ha proposto il seguente procedimento per ricercare l'acido urico nel sangue: in una provetta si mettono alcuni centimetri cubici di siero in esame e vi si aggiunge, in proporzione del decimo del peso, acido acetico cristallizzato, diluito al 28 % (acido 28, acqua 72). Si fanno pescare al fondo due fili di lino, si lascia a temperatura ambiente, impedendo l'evaporazione. Dopo 24-48 ore si estraggono i fili, ai quali sono attaccati dei caratteristici cristalli, a forma

di pietre da affilare, di acido urico, se questo è contenuto in una certa percentuale nel sangue, mentre nel sangue normale il contenuto di esso non è tale da poter essere messo in evidenza.

Esistono altri metodi più severi per la ricerca e il dosaggio dell'acido urico nel sangue: un altro di Garrod, quello di Jaksch che noi non descriviamo in considerazione delle limitate osservazioni che esistono nella medicina del cavallo e del bue riguardo alla malattia, nella quale questi metodi troverebbero il loro utile impiego. Conosciamo sulla gotta del cavallo e del bue soltanto gli studî di Vogt e di Chazeau, nei quali non è fatto cenno a ricerche ematologiche.

Allo stato fisiologico il siero di cavallo contiene, secondo Scöndorff, 0,023-0,505 di urea.

Ricerca nel sangue dell'urobilina e dei pigmenti biliari.

Nel paragrafo sulla spettroscopia del sangue si è detto dell'applicazione di questa per la ricerca nel siero dell'urobilina e dei pigmenti biliari, qui accenniamo ad alcune ricerche chimiche, che per la determinazione di detti elementi, secondo molti autori presentano vantaggi di maggior sicurezza ed esattezza che non ricorrendo al primo metodo.

Per la ricerca dell'urobilina una discreta quantità di siero è mescolata a parti uguali con alcool amilico, ed agitando si forma una emulsione. Questa, lasciata in riposo o centrifugata, scompare, separandosi dal siero l'alcool amilico che si decanta, ed è ridotto per evaporazione a 3-4 c.c. Si aggiungono alcune goccie di cloruro di zinco ammonicale e si agita. La presenza di urobilina è messa in evidenza da una colorazione rosa per trasparenza, una bella fluorescenza verde per riflessione.

L'alcool amilico può essere sostituito dal cloroformio, e l'emulsione può essere separata, oltre che col riposo e colla centrifugazione, mediante il seguente procedimento: nel fondo di un imbuto si mette un pezzo di cotone idrofilo capace di

assorbire tutta l'emulsione che gli vien versata sopra; si comprime con una provetta di vetro, si raccolgono in una provetta i due liquidi che escono dal cotone separati. Il cloroformio decantato e concentrato, è trattato con una soluzione alcoolica all'1 °/₀ di acetato di zinco, che dà la caratteristica fluorenza in presenza di urobilina.

Per la ricerca dei pigmenti biliari serve il procedimento di Jaksch, che però è complesso e poco impiegato: il siero è riscaldato diverse volte a 50°-60° e se contiene pigmenti si colora in verde.

È più pratica l'applicazione della reazione di Gmelin: si versano in una provetta alcuni centrimetri cubici di acido nitrico nitroso, oppure di reattivo di Gilber (acido nitrico puro 200 c.c.; acqua distillata 100; nitrito di sodio gr. 0,06) e poi lungo le pareti si lasci cadere un po' di siero in modo che non si mescoli, ma si stratifichi sopra l'acido. Si può anche prima versare il siero, poi con una pipetta portata al fondo della provetta lasciare cadere il reattivo.

In due o tre minuti si palesa la reazione, dovuta all'acido che monta per diffusione coagulando il siero. Il coagulo cresce man mano e da bianco diventa prima gialliccio, per assumere nei casi in cui i pigmenti sono abbondanti, tre cerchi di colorazione, dal basso in alto violetto, bleu, verde. E' un metodo questo molto sensibile, perchè anche con traccie minime di pigmenti biliari almeno l'anello bleu si forma.

Il siero di cavallo, secondo Hammarsten, Gilbert, Herscher, Lereboullet, Stein, Posternak, ecc., dà la reazione di Gmelin. La questione della presenza della bilirubina nel sangue normale non sembra ancora aver accolto il consenso unanime. Hammarsten per primo, l'ha riscontrata nel siero di alcuni animali ed in particolare del cavallo, dal quale l'ha potuta isolare, allo stato cristallizzato, 17 volte su 20.

M. Auchè afferma di aver esaminato con i diversi metodi un gran numero di sieri di animali da macello.

Il siero di cavallo è, secondo tale autore, sempre molto carico di pigmenti.

Nel siero di bue le quantità sono variabili, ma per lo più assai sensibili. Il siero di montone è povero, quelli di

porco e di coniglio, poverissimi. Nell'uomo ottenne reperti molto variabili; il più spesso la percentuale era elevata, ma i sieri presi in esame dall'autore appartenevano ad individui ammalati. Il pigmento si conserva per molto tempo nel siero e lo si mette in evidenza anche nei sieri vecchi in preda ad accentuata putrefazione.

Il Bierthen, che ha condotto un ampio studio sulla constatazione di bilirubina nella bile, nell' urina e nel siero di sangue nel cavallo, afferma che nel siero di cavallo esiste costantemente la bilirubina, la quale viene poi trasformata dal fegato in idrobilirubina e dai reni in urobilina — idrobilirubina.

PARTE TERZA.

Esame batteriologico del sangue

I batterii nel sangue circolante.

Fino a non molti anni addietro era invalso il concetto nella patologia umana e veterinaria di considerare come eccezionale l'afflusso di batterii nel sangue durante il corso delle diverse malattie infettive. Detta opinione oggi è stata dimostrata ben contraria alla realtà, dopo che per una lunga serie di osservazioni e di ricerche si riuscì a dimostrare quanto frequente sia la batteriemia nelle differenti forme infettive o tossico-infettive naturali o sperimentali.

Una ricca flora microbica è un pericolo continuo alla resistenza dell'organismo vivendo e moltiplicandosi sulla pelle, sulle mucose, nelle prime vie respiratorie, nel tubo digestivo e vie genito-urinarie, nei condotti galattofori delle femmine lattanti e nel condotto ombelicale dei neonati, talvolta anche dopo l'allacciatura di esso.

Questa se anche è costituita da germi normalmente inoffensivi, essi possono talvolta acquistare grave patogenicità in seguito alla rottura delle barriere epiteliali ed epidermiche, o ad una loro aumentata virulenza, o ad una diminuita potenzialità dei mezzi di difesa dell'organismo. Del resto anche pelle e mucose intatte o solo leggermente traumatizzate possono dar passaggio ai germi patogeni. Traccie di culture, di tubercolosi, morva, carbonchio ematico, ecc. spalmate su pelle rasa di cavia uccidono questa della malattia (Ottolenghi, Desposito).

Oppure la fonte dell'infezione microbica del sangue può essere rappresentata da un focolaio infiammatorio palese o nascosto. Secondo Sabrazès fra le lesioni capaci di infettare l'organismo per via sanguigna, hanno speciale interesse le seguenti: furuncolo, pustola maligna, uretriti, metriti, congiuntiviti, otiti, rino-faringiti, tonsilliti, stomatiti, gengiviti, adeniti, affezioni bronco-polmonari, endocarditi, ecc. Possono anche servire di tramite i fagociti, che inglobati i germi e trasportatili nel sangue dal focolaio primitivo non sono poi riusciti a distruggerli. Affluiti al sangue i microbi, vengono da questo trasportati in circolo e deposti in quegli organi o tessuti dove trovano più favorevoli condizioni di vita e di sviluppo oppure vengono eliminati attraverso gli organi emuntorii (reni, vie biliari, intestino).

Nel 1863 Pasteur dimostrò, ed ancor oggi è ritenuto in tesi generale, che il sangue circolante nelle condizioni fisiologiche è sterile. In seguito Nocard, Porcher e Desoubry dimostrarono la non sempre veridicità di tale affermazione. Nocard mette in evidenza la presenza di microbi tanto più notevole dopo l'introduzione di alimenti grassi nel siero di sangue di cavalli raccolto durante la digestione. Porcher e Desoubry dimostrano che il chilo dei cani durante la digestione è ricco di batteri, mentre questo fatto non è confermato totalmente dalle esperienze di Neisser e Opitz.

Ad ogni modo da quanto sopra si dovrebbe dedurre che per un esame batteriologico esatto nelle malattie è opportuno prelevare il sangue a digiuno specialmente di sostanze alimentari grasse.

Per quanto concerne la storia della batteriologia ematica ricorderemo che dacchè Davaine e Rayer nel 1850 scoprirono nel sangue di animali affetti il bacillo carbonchioso e nel 1873 Obermeier scoprì la spirocheta del tifo ricorrente, innumerevoli furono le ricerche eseguite sul sangue da parte di ogni sperimentatore nelle malattie infettive dell'uomo e degli animali. Ben presto si mise in evidenza il concetto che se nelle malattie parassitarie il semplice esame microscopico può essere sufficiente per la messa in evidenza degli ematozoari, non altrettanto esso risponde nella ricerca dei microbi, i quali il più delle volte solo nei periodi preagonici o subito

dopo la morte sono sufficientemente numerosi per non sfuggire all'esame microscopico. E allora non sono difficili errori d'interpretazione dovuti al riscontro di germi banali che hanno invaso il sangue per la diminuita resistenza dell'organismo o che stanno ad attestare infezioni secondarie. Non insistiamo sul poco valore che può avere un esame del sangue *post mortem* quando sia avvenuto l'assorbimento di molte varietà di batterii banali. Nel sangue prelevato durante la vita dell'animale i batterii non sono apprezzabili tante volte per il lieve numero, che ne è contenuto in poche goccie. È per questo che fu sentita la necessità di ricorrere talvolta all'emocoltura, dove una discreta quantità di sangue (5-10-50 c. c.) permette più facilmente di evitare il su citato inconveniente.

Constatazione microscopica diretta dei batteri nel sangue.

(*Esame dei preparati a fresco e colorati*).

Quando si possa arguire ehe i batteri siano numerosi nel sangue, il che è fatto abbastanza raro, e che essi abbiano dimensioni relativamente notevoli, per la loro scoperta si può ricorrere ad un esame a fresco. Una goccia ottenuta secondo la tecnica precedentemente indicata è posta senz'altro sopra un vetrino porta-oggetti e ricoperta da un copri-oggetti. Si osserva con un obbiettivo a secco a forte ingrandimento oppure coll'obbiettivo ad immersione.

Per l'allestimento dei preparati a secco si può far uso tanto dei vetrini porta-oggetti, quanto di quelli copri-oggetti; però in considerazione della scarsità colla quale si presentano generalmente i batteri nel sangue, è meglio consigliare di ricorrere ai primi, perchè con essi si ottiene una più vasta superficie d'esame e quindi maggiore quantità di sangue può essere osservata. Si raccoglie quindi una goccia di sangue su un vetrino porta-oggetti, la si distende strisciandovela collo spigolo levigato di un altro vetrino o di un cartoncino duro, facendo angolo coi due vetrini di 45°, poi si lascia essiccare all'aria.

Per la fissazione può bastare il passaggio per 2-3 volte dei vetrini attraverso ad una fiamma a gaz oppure la permanenza per 5 minuti in una miscela a parti uguali di alcool ed etere. Laveran consiglia di mantenere i vetrini per 20 minuti nell'alcool assoluto. Günther per evitare l'inconveniente che l'albumina coagulata toglie al preparato bellezza e trasparenza consiglia il seguente metodo che serve ad allontanare l'emoglobina ed una parte dei corpi albuminoidi. Il preparato fissato al calore, è lasciato per 10 secondi in una soluzione al 5 per 100 di acido acetico e fatto essicare rapidamente è esposto, onde neutralizzare i residui di acido, ai vapori che escono da una bottiglia aperta contenente ammoniaca; le emazie di cui l'emoglobina è stata sciolta non si colorano ed i microbi sono più facilmente messi in evidenza.

Il più delle volte però i microbi sfuggendo ad un semplice esame per striscio come quelli descritti, è necessario indagare sopra una maggior quantità di sangue, la quale sottoposta alla centrifugazione può permetterci di rintracciare i microbi.

Nel 1903 Jousset partendo dal concetto che i bacilli tubercolari sono suscettibili a colorarsi collo Ziehl anche dopo aver subìta una prolungata azione di succo gastrico artificiale, propone il suo metodo inoscopico, per ricercare nei liquidi coagulabili i batteri dopo peptonizzazione di essi alla stufa. Decantato il siero e lavato il coagulo questo è posto al termostato per alcune ore agitandolo frequentemente col succo gastrico artificiale così composto:

Pepsina	gr. 3
Glicerina pura	aa 10 c. c.
Acido cloridrico a 22° Réaumur	
Floruro di sodio	gr. 3
Acqua distillata	gr. 1000

Indi si centrifuga. Jousset con tale metodo mise in evidenza il bacillo tubercolare nel sangue 13 volte su 32. Tale metodo è stato sostituito con altri più semplici e più sicuri. Anche quello del prelievo del sangue dalla sanguisuga satolla del sangue dell'ammalato (Lesieur) è stato abbandonato.

Bisanti e Panisset (i metodi di questi e degli altri autori che ora citeremo si riferiscono ai bacilli tubercolari) prelevano con una siringa il sangue e ne impediscono la coagulazione

coll'aggiunta di una soluzione al 30 °/₀ di floruro di sodio, indi centrifugano e prelevano lo strato che si forma fra emazie e plasma, costituito da leucociti, e lo addizionano in soluzione fisiologica; in questa miscela si trovano i bacilli tubercolari.

Il metodo che ha migliore applicazione è quello del trattamento del sangue coll'antiformina preconizzato da Uhlenuth ed impiegato da una lunga serie di autori.

Il più semplice è il procedimento di Lipmann: 10 c. c. di sangue sono mescolati con 30 c. c. di soluzione di acido acetico al 3 per cento e dopo mezz'ora di contatto si centrifugano; il sedimento ripreso con un po' di acqua, e addizionato con 60 c. c. di antiformina al 15 °/₀ si lascia per un'ora in termostato, si centrifuga nuovamente e il sedimento dopo averlo lavato due volte con acqua distillata, serve a preparare gli strisci per la ricerca dei bacilli.

Löpez e Louste consigliano di mescolare una goccia di sangue con una miscela di 1 c. c. di alcool assoluto e 2 c. c. di acqua distillata e di centrifugare. Così i corpuscoli rossi si sciolgono ed allestendo preparati a secco col precipitato vi si rinvengono i batteri. E' necessario procedere al riparo da ogni possibile contaminazione.

Staübli invece aspira il sangue con una pipetta umida di una diluizione acquosa di acido acetico al 3 °/₀, indi lo versa in questa stessa in una proporzione 10-15 volte maggiore e centrifuga. Una tale soluzione di acido acetico distrugge i globuli rossi ma lascia stare i microbi, come pure i leucociti, e non disturba le successive colorazioni.

Per la colorazione dei preparati fissati servono bene quelle sostanze che, come il bleu di metilene hanno una affinità quasi elettiva per i batteri ed i nuclei dei leucociti e non colorano le emazie o le colorano molto debolmente in tinta metacromatica verdastra.

E' dunque molto usata una soluzione acquosa satura di bleu di metilene o il bleu di metilene fenicato (bleu di Kühne), quest'ultima soluzione trova la più spiccata indicazione per i batteri delle setticemie emorragie, ai quali trasmette una bella colorazione elettiva (Lignières).

La durata di cinque minuti della colorazione è sufficiente, poi si lava accuratamente con acqua di rubinetto.

E' bene ricorrere anche al metodo di colorazione del Gram, il quale può darci subito una utile indicazione per indirizzarci verso una diagnosi.

Un altro metodo consigliabile è il seguente: si fa agire prima, per la durata di 1/2 ora circa, sul preparato una soluzione acquosa di eosina al 0,50 $^{\circ}/_{0}$, si lava con acqua, poi si colora per un minuto con una soluzione acquosa satura di bleu di metilene; si lava e si asciuga.

E' nel carbonchio ematico che l'esame microscopico diretto del sangue, sia a fresco che a secco, dà i migliori risultati, per quanto esso talvolta si renda efficace soltanto nelle ultime ore di vita dell'animale.

Talora è possibile anche mettere in evidenza nel sangue stafilococchi, streptococchi e i batterii ovoidi specialmente nelle forme acute ed iperacute delle pioemie, della adenite equina a forma setticemica e delle setticemie emorragiche.

Per quanto riguarda la tubercolosi Forsyth e Lipmann trovano di frequente il bacillo di Koch nel sangue di bovini affetti da tubercolosi generalizzata o da forme bacillari subacute. Broll lo riscontra nel sangue di bovini a tubercolosi polmonare aperta.

Del resto la questione della presenza dei bacilli tubercolari nel sangue dei bovini tubercolotici è delle più intricate. I lavori di Nocard, Mac Fadyean, Perroncito, Chauveau, Arloing, Karstner, Ostertag, Galtier, Bollinger, Hagemann, Droll e Mammer, Bang, Ishiwara, Schroeder e Cotton, Titse, ecc., lasciano molto perplessi. Le recentissime ricerche sulla batteriemia sperimentale nelle cavie e naturale nei bovini di Fattore e Desposito vorrebbero risolvere il problema nel senso che il bacillo tubercolare nel sangue è reperibile solo molto raramente.

Constatazione culturale dei batterii nel sangue.

Per mettere in evidenza la presenza dei microbi nel sangue a mezzo delle semine nei terreni culturali è necessario prelevare questo direttamente dalla vena aspirandolo, con tutte le regole di asepsi, come già è stato indicato, mediante una

grossa siringa, dalla giugulare del cavallo o del bue. Prelevandolo invece previa puntura della mucosa labiale o della pelle non è possibile metterci al riparo, nonostante tutta la più scrupolosa disinfezione, da una probabile contaminazione da parte dei germi che vivono normalmente saprofiti su quegli organi. Inoltre per le ricerche culturali è sempre necessaria una discreta quantità di sangue.

A questo riguardo va tenuto conto, quando si proceda a seminagioni di sangue, di due fattori che urtano fra di loro.

L'uno riguarda il quantitativo di sangue piuttosto rilevante che va impiegato perchè normalmente i microbi sono assai rari, l'altro, si riferisce alle proprietà battericide talvolta notevoli del siero di sangue, per cui soddisfacendo il primo è bensì più facile rinvenire i microbi anche se sono assai scarsi, ma si corre il rischio di inceppare contro gli effetti del secondo fattore. E' opportuno perciò, specialmente nelle malattie ove si stabilisce nel siero un forte potere battericida, diluire il sangue nel mezzo di cultura in proporzioni convenienti affinchè esso non possa svolgere la propria influenza. D'altra parte vi sono germi i quali trovano più favorevole sviluppo nei mezzi ricchi di sangue e per questi una notevole quantità di esso trova doppia indicazione.

Parecchi sono i metodi di tecnica culturale che sono stati consigliati per le semine di sangue: Schottmüller mescola 20 c. c. di sangue a dell'agar liquido, poi ne forma delle placche; Sacquépée e Perquis defibrano il sangue, poi lo ripartiscono in ragione di 10 a 30 goccie in palloncini contenenti ciascuno 100 centimetri cubici di brodo; Baur mescola il sangue a parti uguali con una soluzione di glucosio e porta direttamente la miscela al termostato; Horden consiglia di bagnare la siringa col citrato di soda prima di usarla onde impedire la coagulazione; Lafforgue separa il plasma coll'aggiunta al sangue di citrato di soda a un quinto (una goccia per centimetro cubico di sangue) centrifuga e ripartisce il sedimento in tubi di brodo; Sittmann versa un c. c. di sangue in un tubo di agar fluidificato, in un tubo di gelatina pure fluidificata e in due tubi di brodo, agitati accuratamente i primi due sono versati in scatole Petri per formare delle placche; Lenhartz adopera quantità maggiori di sangue e

mescola tre provette di agar fluidificato e raffreddato a 45°
e tre di gelatina pure fluidificata con almeno 10 cc. ciascuna del sangue prelevato, indi versa le miscele in scatole Petri.

L'esperienza ha dimostrato che più pratici dei suaccennati metodi sono i seguenti: quello di Courmont, di Busquet e di Lemierre. Courmont semina un pallone contenente 300-500 c. c. di brodo o di acqua peptonata, con 2-4 c. c. di sangue, versato nel brodo all'atto del prelevamento. Posto il pallone in termostato a 37°; se dopo 24 ore non si scorge intorbidamento del brodo, si agita accuratamente, si osserva per diversi giorni; essendone talvolta necessari fino a dieci, prima di poter escludere lo sviluppo di qualsiasi germe.

Busquet in una serie di 20-30 palloni contenenti ciascuno 200-250 c. c. di brodo peptonizzato ripartisce a goccie (2-3 p. pallone), 1 a 5 c. c. di sangue.

Lemierre semina in palloni contenenti acqua peptonizzata (peptone gr. 20 - cloruro sodio gr. 5 - acqua gr. 1000); avvenuto l'arricchimento in essa fa dei passaggi in provette di brodo e di agar e tiene queste in osservazione.

E' inutile insistere che qualunque metodo, degli accennati o di altri, si sia scelto per la semina del sangue è assolutamente necessario lavorare colle più scrupolose regole di asepsi, per mettersi al riparo da eventuali possibili contaminazioni.

Senza accennare ad alcuni terreni speciali che sono in uso nella medicina umana per le varie specie di batteri (bacillo d'Eberth, di Pfeiffer, pneumococco, meningococco, gonococco), ricordiamo che gli streptococchi patogeni, a differenza di quelli non patogeni hanno proprietà emolitiche colorando i mezzi liquidi coll'emoglobina disciolta, mentre sulle piastre di agar con sangue, nel loro perimetro, in seguito allo stesso potere emolitico, rendono trasparente il terreno nutritivo.

Ricorrendo alla tecnica delle seminagioni del sangue in casi di carbonchio ematico, di pioemie, di adenite equina, di setticemie emorragiche è facile mettere in evidenza i loro agenti.

Il Grimaldi riferisce che nella diarrea dei vitelli, mentre i colibacilli raramente e solo scarsamente si rinvengono nel

sangue circolante, i paracolibacilli, vi si trovano in numero rilevante.

Questo autore afferma ancora che in via del tutto eccezionale venne notata l'invasione del sangue nell'ultimo periodo della malattia, ma in ogni caso i bacilli vi si trovavano in scarsa quantità.

Sempre come rarissima eccezione ed in percentuale minima Nicolaier, Creite e Haegler hanno potuto constatare nel sangue i bacilli del tetano.

Anche in medicina umana dall'esame culturale del sangue sono stati isolati altri microbi anaerobii, (*bacillus perfringeus*, *bacillus poeciloides*, *bacillus ramosus*), osservazione questa che va a sfatare il concetto, ben radicato prima in batteriologia, della impossibile vegetazione di batteri anaerobi nel sangue.

Inoculazione di sangue negli animali da laboratorio e virulenza di esso nelle malattie a virus filtrante. Tossicità del siero negli stati patologici.

E' sempre raccomandabile consigliare di ricorrere alla inoculazione degli animali di laboratorio recettivi verso una data infezione ogni qualvolta sia difficile la messa in evidenza delle varietà microbiche sospettate in circolo col semplice esame microscopico o con quello culturale del sangue. Difatti, se anche nel sangue sono rari i microbi, difficilmente sfuggono alla loro azione patogena gli animali inoculati e d'altra parte batteri non facilmente coltivabili più facilmente trovano ambiente favorevole al loro sviluppo nell'organismo di animali recettivi.

Il sangue prelevato dalla giugulare dell'animale ammalato verrà immediatamente, prima che si coaguli, inoculato sotto cute o nel peritoneo di un animale da laboratorio sensibile a quella data infezione che si sospetta; può essere inoculato anche il coagulo sanguigno, sottoposto preventivamente a successivi lavaggi. In pratica il metodo delle inoculazioni può dare risultati favorevoli in tutte le invasioni batteriche del sangue. In medicina umana è specialmente nella ricerca dei bacilli tubercolari che si è dimostrato efficace.

Ci sembra opportuno ricordare in questo paragrafo che vi sono malattie a virus filtrabile, invisibile o incoltivabile, durante il corso delle quali il sangue è capace di trasmettere l'infezione agli animali recettivi alla malattia stessa. Questo fatto è comune a molte di tali malattie dell'uomo e degli animali, noi accenniamo soltanto a quelle che colpiscono i cavalli e i bovini: nella febbre tifoide del cavallo, secondo le ricerche di Bemelmans e Basset, il sangue può essere infettante perfino dopo 3 mesi dall'avvenuta guarigione; nella tifo-anemia infettiva del cavallo Carré e Vallée ed altri dimostrarono il sangue virulento durante la malattia ed anche negli animali apparentemente guariti; nella peste equina, secondo Theiler il sangue è virulento durante tutto il decorso della malattia; nel vaccino, da Casagrandi è stato dimostrato che in certi momenti il sangue può essere infettante; nella peste bovina esso trasmette la malattia in minima proporzione e, secondo la maggior parte degli autori, durante tutto il decorso clinico, secondo Carpano invece non negli ultimi periodi e prima della morte dell'animale; nell'afta epizootica il sangue è pure infettante nel momento in cui appare la febbre (Spinola, Löffler e Frosch) o nel periodo febbrile precedente la comparsa delle vescicole (Cosco e Aguzzi); infine nella rabbia il sangue è stato trovato virulento soltanto da Lussana, Bordoni-Uffreduzzi e Marie mentre risultati negativi ottennero sempre Bert, Blaine, Breschet, Celli, Dupuytrin, Galtier, Lessona, Magendie, Renault, ecc.

Negli stati patologici, allorchè gli emuntorii non assicurano più la depurazione dell'organismo, la tossicità del siero può essere aumentata, ed in medicina umana si è tentato di sfruttare questo fatto, colle inoculazioni agli animali; in vantaggio della diagnosi e della prognosi delle malattie. E' specialmente nelle malattie infettive e nelle nefriti che un tale aumento di tossicità è stato studiato, come pure ricerche importanti sempre in medicina umana, furono fatte nell'eclampsia e nella epilessia.

Sperimentalmente Rummo e Bordoni hanno studiato il sangue di animali infettati con diversi microbi ed hanno

constatato un forte aumento della sua tossicità, così si produce sicuramente la morte in un coniglio inoculato con 10-15 c. c. di siero di coniglio carbonchioso.

Riguardo al valore prognostico della ricerca della tossicità del siero in certe malattie è stato ad esempio osservato da Charrin e Roger, che nella polmonite dell'uomo varia secondo i diversi periodi della malattia e che è in rapporto inverso con quella dell'urina. Così man mano che la malattia progredisce aumenta nel siero, diminuisce nell'urina, risolvendosi la malattia succede il contrario.

Abbiamo voluto accennare a questo metodo semplice di indagine, perchè ci sembra che in alcuni casi potrebbe trovare utile impiego anche nella clinica veterinaria. Ricorrendo però alla sua applicazione è bene tener presente quella che può essere la tossicità normale del siero di cavallo e di bue di fronte alla specie animale scelta per l'inoculazione. Così ad esempio il siero di bue sano è molto tossico per la cavia, mentre lo è assai poco il siero di cavallo (Carré e Vallée).

Constatazione nel sangue di tripanosomi.

Specialmente in questi ultimi anni le tripanosomiasi hanno assunto una grande importanza perchè le grandi nazioni colonizzatrici hanno chiaramente compreso che l'avvenire delle Colonie è principalmente e intimamente legato a quella che è produzione di bestiame. Guidate da questo criterio esse hanno dato il più largo impulso allo studio delle infezioni tropicali e più particolarmente a quello delle tripanosomiasi.

Molti governi coloniali infatti (il Britannico, il Belga e il Tedesco) hanno largito considerevoli sovvenzioni pecuniarie perchè nelle Colonie ed in Europa si fondassero Istituti tropicali con laboratori adatti a dare sempre maggiore impulso alle ricerche di medicina tropicale.

Le tripanosi costituiscono all' allevamento del bestiame uno dei più gravi ostacoli, per il vero flagello che esse rappresentano e per la rapida ed accresciuta propagazione di esse, susseguente appunto allo sviluppo del commercio e dei mezzi di civilizzazione messi in atto dai colonizzatori.

Queste malattie hanno richiamato su loro l'attenzione di molti valenti studiosi, di modo che noi ne possediamo oggi conoscenze abbastanza estese e profonde. Il loro numero è piuttosto alto e si differenziano fra loro per la diversità dei sintomi clinici, dei caratteri epidemiologici più che per vere e proprie differenze morfologiche dei parassiti che le sostengono.

Difatti le lievi diversità di aspetto non sono sufficienti per indirizzarci ad una differenziazione esatta e precisa delle varie specie di tripanosomi e quindi agli effetti della semeiotica non hanno importanza.

Tali parassiti possono esser messi bene in evidenza anche nei semplici preparati a fresco e per le loro dimensioni non richiedono neanche ingrandimenti molto forti. Per i preparati a secco è raccomandabile che lo strato di sangue sia molto sottile e disteso leggermente. La fissazione di essi può essere fatta coi varii metodi indicati anche per i preparati di sangue infetto da piroplasmi. Per la colorazione oltre quella semplice col bleu di metilene o col bleu di Manson, dànno ottimi risultati i metodi di Giemsa, di Leishman, di Croveri, ecc. Talvolta durante certi periodi della malattia, i tripanosomi possono mancare nel sangue temporaneamente e ricomparirvi in periodi successivi. Quando essi siano in numero troppo scarso per essere facilmente resi evidenti si può mettere in atto il metodo, consigliato in medicina umana, da Guiard e Grimbert, secondo il quale si fa l'esame microscopico del sangue dopo centrifugazione. Si usano per ciò 5-10 cm^3 di sangue, mescolato con soluzione di cloruro o di citrato sodico ed avendo cura di non centrifugare troppo violentemente, sicchè i tripanosomi restino quasi tutti in uno strato, che è al disopra di quello dei globuli rossi e spesso anche sopra a quello dei leucociti. La centrifugazione può esser fatta in una sola volta o ripetuta, separando da prima gran parte dei globuli rossi e parte dei bianchi e infine centrifugando a fondo il liquido separato nella prima centrifugazione.

I tripanosomi appartengono ai protozoi, all'ordine dei binucleati, alla classe dei flagellati o mastigofori.

Sono dei parassiti microscopici che misurano generalmente in media, secondo le specie, da 20-30-35 μ di lunghezza

e 1,5-2,5 fino a 4, 5 μ di larghezza. Se ne possono anche riscontrare di più piccoli o di più grossi. La loro forma è quella di un fuso schiacciato nel senso trasversale o di una linguetta un po' spessa affilata alle sue due estremità e spesso arcuate a semiluna. Il corpo si compone di una massa protoplasmatica contenente delle fine granulazioni con un nucleo ed un ammasso cromatinico più piccolo chiamato, secondo gli autori, centrosoma o blefaroblasto.

Da questo parte un lungo flagello che percorrendo longitudinalmente tutto il corpo e ripiegandosi più volte, costituisce l'orlo esterno di una membrana ondulante, mentre all'estremità opposta al centrosoma si rende libero costituendo il vero e proprio flagello.

Il citoplasma è granulare, il suo aspetto è omogeneo ed è difficile distinguere una parte centrale fluida, l'endoplasma, da un'altra periferica più resistente, l'ectoplasma. Non esiste una vera e propria membrana; questa è rappresentata dal cosidetto periplasto, che è un sottilissimo strato di sostanza una specie di pellicola che avvolge il corpo del parassita e permette a questo di subire delle deformazioni più o meno evidenti per riprendere poi nuovamente la sua forma normale.

Il nucleo è di forma rotonda od ovale ed è situato generalmente nel mezzo del corpo, più raramente nella metà opposta al centrosoma. Esso contiene nel mezzo un grosso granulo, il cariosoma, e attorno ad esso un reticolo che si colora intensamente e si addensa alla periferia.

Il blefaroblasto è un corpuscolo rotondo di grandezza varia che si colora intensamente e che si trova generalmente al centro di uno spazio chiaro dove vi è l'inserzione della membrana ondulante. Sulla sua natura si è molto discusso e si è tuttora incerti: alcuni autori lo considerano come un centrosoma, altri come un micronucleo, altri infine come il regolatore delle funzioni motorie del tripanosoma.

La membrana ondulante è una specie di sottile pellicola che segue in buona parte il corpo del parassita lungo il quale è impiantata. E' costituita da protoplasma che sembra identico a quello del resto dell'organismo.

Il flagello è un'appendice filiforme che dapprima forma il bordo esterno della membrana, della quale segue le ripie-

gature, poi diventa libero per un tratto più o meno lungo dall'estremità del parassita opposta a quella dell'origine sua. Il flagello, come il nucleo e il centrosoma, si colorano in rosso col metodo di Romanowsky.

I tripanosomi sono dotati di mobilità, per cui talvolta attraversano il campo microscopico anche abbastanza velocemente: sono la membrana ondulante ed il flagello che imprimono loro dei movimenti a guisa di succhiello.

Talvolta però certi movimenti sembrano dovuti a contrazioni del corpo, per quanto non vi siano fibrille muscoloidi, come negli infusori. Oltre la forma su descritta si possono riscontrare dei parassiti che hanno aspetto sferico o quasi, con o senza flagello.

Essendochè il movimento dei tripanosomi si compie nella direzione del flagello, si è convenuto di chiamare parte anteriore del parassita l'estremità che termina appunto col flagello e posteriore l'altra.

Due forme di riproduzione si osservano nei tripanosomi: una agamica o asessuata ed una sessuata.

La prima avviene per divisione longitudinale ed è facile osservarla nei preparati a fresco mentre i tripanosomi continuano a muoversi con movimenti però più lenti. Il parassita che sta per dividersi aumenta di volume, allungandosi ed allargandosi; il nucleo ed il blefaroblasto si ingrossano e la base del flagello si ispessisce. Indi il nucleo e il blefaroblasto, ora l'uno ora l'altro prima, si dividono; assieme al secondo si divide la base del flagello. A questo punto il tripanosoma si presenta più grande del normale con due nuclei, due centrosomi, due flagelli, di dimensioni generalmente ineguali. Il protoplasma segue poi lo stesso processo di suddivisione e si mette così in libertà l'organismo nuovo, a meno che prima con identico procedimento non avvenga la suddivisione in 3-4 o più elementi.

Oltre questo metodo di riproduzione alcuni tripanosomi ne possono avere un altro, che fu ben studiato da Laveran e Mesnil per il T. Lewisi. Secondo esso il parassita assume dapprima forma più o meno regolarmente sferica od ovoide; ad un certo punto alla periferia vengono a trovarsi disposti diversi nuclei con vicino il relativo centrosoma mu-

nito del flagello. In un periodo più avanzato il protoplasma si retrae attorno ai nuclei tanto che esso pure si suddivide in tante parti quante erano i nuclei formatisi.

I tripanosomi sono degli ematozoari che vivono liberi nel siero sanguigno moltiplicandosi e raggiungendo talvolta un forte numero, tanto che un semplice esame microscopico a fresco permette di metterli in evidenza. Ciò è facilitato poi dai loro movimenti rapidi e da quelli che imprimono alle emazie vicine. Per tale esame, facendolo ricadere su grosse goccie di sangue, è bene impiegare un debole ingrandimento (300 diametri circa) che permetta di esaminare rapidamente una più larga superficie e riscontrare i tripanosomi anche quando sono rari.

Oltre che il sangue possono talvolta contenere tripanosomi, ed anche in numero rilevante, la linfa e il liquido degli edemi, come si osserva nella dourina.

La ricerca dei tripanosomi quando fallisce, se fatta mediante esami microscopici, può invece fornire risultati soddisfacenti e quasi sicuri richiedendola alle inoculazioni di sangue sospetto negli animali.

La scelta dell'animale deve cadere sulla specie che maggiormente è recettiva di fronte al genere tripanosoma sospettato, tenendo calcolo delle difficoltà inerenti alle località ove si esperimenta. E' necessario che la quantità di sangue che si inietta non sia troppo elevata o almeno che essa sia diluita con liquidi inerti quali la soluzione fisiologica addizionata dell'1 $^0/_0$ di citrato sodico. Essendo il sangue spesso assai ricco di anticorpi, insufficienti però a guarire il malato, ma capaci comunque di proteggere l'animale da esperimento, le suaccennate precauzioni sono appunto dirette a prevenire questo fatto. Il metodo delle inoculazioni ha l'inconveniente di richiedere un tempo assai lungo per dare risultati apprezzabili.

A scopo diagnostico sarebbe ancora prematuro l'indicare il mezzo delle culture per attenderci da esso risultati pratici ed efficaci.

Il grado di virulenza dei tripanosomi varia molto secondo le specie; alcuni di essi sono in offensivi, altri sono patogeni ed alcuni ad altissimo grado. A noi dal punto di vista clinico

interessano soltanto quelli che sono agenti di malattie speciali nel cavallo e nel bue.

Di questi però non facciamo una descrizione particolareggiata, perchè allo stato attuale delle nostre conoscenze, sulla loro morfologia non è possibile, come già dicemmo, affrancarci per stabilire una differenziazione esatta.

Osserviamo infatti che le differenze morfologiche e biologiche fra specie e specie assieme ai tentativi basati sulle reazioni immunitarie, finora non hanno fornito risultati sufficientemente soddisfacenti per permettere all'osservatore una diagnosi differenziale ben precisa.

Insistiamo quindi nel ripetere che le differenze non bene rilevabili e talvolta erronee, che esistono nella forma e nella grandezza del corpo protoplasmatico, nella forma dei due estremi, nell'ampiezza della membrana ondulante, nella presenza o meno di un flagello libero e nella sua lunghezza, infine nei particolari di struttura non hanno valore assoluto nellà diagnosi clinica di queste malattie. Perchè esiste un certo grado di polimorfismo anche nelle stesse specie di tripanosomi, tanto che per alcune di essi si è sentito il bisogno di stabilire diversi tipi morfologici, per assegnare a ciascuno di essi le forme varie che si riscontrano all'esame microscopico. Così sono stati costituiti tre tipi, degli individui piccoli, medii e grandi, e si è arrivati alla formazione di essi mediante un metodo molto delicato, quello di calcoli biometrici, misurando cioè la lunghezza di ogni individuo. Questo metodo, se non fosse troppo lento e brigoso come da qualche studioso, e da noi pure, è stato tentato, potrebbe fornire risultati notevoli, se applicato allo studio sistematico e regolare di un ammalato, permettendo di rilevare l'andamento nella comparsa di forme varie durante l'infezione, onde ricavare qualche criterio sul significato di ciascuna di esse.

Constatazione nel sangue di piroplasmi ed anaplasmi.

Nel sangue sovente, oltre alle forme batteriche e protozoarie bene conosciute e più sopra accennate, occorre ricercare l'eventuale presenza di piroplasmi.

Le piroplasmosi sono malattie dei nostri animali domestici a decorso ora acuto, ora cronico, sostenute da protozoi appartenenti alla classe degli sporozoi, all'ordine degli emosporidii, i piroplasmi o babesie, che sono trasmessi e inoculati dalla puntura di una zecca della famiglia degli ixodidi (zecche), che vivono come ectoparassiti sul corpo del bestiame. I piroplasmi raggiungono il circolo sanguigno, penetrano nei globuli rossi, dove vivendo a spese degli stessi li dissolvono, producendo nell'animale colpito anemia e talvolta emoglobinuria ed itterizia.

Ad ogni specie animale corrisponde una specie di babesia ed una infezione a sintomatologia clinica caratteristica.

Gli studî sistematici sulla natura dei piroplasmi furono iniziati dalla scoperta fatta dal Babes nel 1888 di un parassita del sangue, dapprima considerato un batterio. Da allora molte pregevoli investigazioni si susseguirono, nelle quali figurano onorevolmente non pochi nomi di autori italiani.

Dall'esame microscopico del sangue ne risente un grande vantaggio la clinica perchè non sempre l'osservazione dei sintomi è sufficiente per portare ad una diagnosi.

Detto esame può esser fatto con preparati a fresco oppure con preparati colorati. Per questi il sangue prelevato, nel modo noto, alla base del padiglione dell'orecchio oppure alla mucosa del labbro superiore, dopo essere stato strisciato sui vetrini ed essicato all'aria è fissato o col metodo di Erlich (riscaldamento per 20'-60' al termostato a 100°-120°) o colla formalina, o con l'acetone, o con alcool-etere, o con alcool metilico, o con alcool assoluto o con acido osmico oppure ancora col sublimato alcoolico caldo (soluzione concentrata di sublimato 2 volumi, alcool 1 volume). Secondo questo ultimo metodo i vetrini si lasciano immersi per 8-12 ore nella suddetta soluzione, si lavano abbondantemente, si immergono nel liquido di Lugol e si lavano ancora abbondantemente. Per la colorazione il metodo più semplice è quello di usare il bleu di metilene. Il Sahli raccomanda per la malaria umana il bleu di metilene boracico di Manson (2 gr. di bleu di metilene sono sciolti in 100 c. c. di soluzione di borato di sodio al 5 % bollente). Questo al momento dell'uso è diluito

in una provetta in modo da risultare ben trasparente, e lo si lascia agire per 10-15 secondi.

Un metodo di colorazione più delicato e completo è quello del Romanowsky, secondo i procedimenti di Giemsa, Leishmann, Laveran, Croveri, ecc. (v. pag. 117).

Per rintracciare plasmodi malarici scarsi, in medicina umana, il Ruge consiglia un metodo che ricordiamo perchè ci sembra potrebbe dare utili vantaggi anche nella ricerca dei piroplasmi poco numerosi nel sangue.

Lo striscio vien fatto con uno strato spesso di sangue, poi il vetrino è capovolto e messo in una capsula contenente una soluzione di formalina al 2 °/₀ e di acido acetico al 1/2 - 1 °/₀. Tale soluzione fissa il preparato ed estrae l'emoglobina. Poi si colora con bleu di metilene. Si ha il vantaggio che si esamina una quantità di sangue venti volte maggiore di quella vista coi comuni strisci, per cui più difficilmente i parassiti sfuggono all'esame.

Per l'esame a fresco di sangue non colorato bisogna usare l'avvertenza, che lo strato di esso sia il più che sia possibile sottile, per evitare la sovrapposizione dei globuli rossi ed il loro ammassamento in pile. Il preparato, allestito con tutti i rigori di tecnica altrove indicati, viene esaminato ad immersione con l'apparecchio di Abbé ed a medio diaframma.

Per quanto riguarda l'importanza diagnostica del reperto positivo di piroplasmi nel sangue esso ha valore assoluto e indiscutibile. Anche il riscontro di un solo parassita è sufficiente per affermare l'esistenza della malattia nel bovino od equino che ha fornito il sangue in esame. Non altrettanto valore assoluto hanno invece i reperti microscopici negativi quando l'esame clinico dell'animale ed i dati epidemiologici ci spingano ad una diagnosi affermativa.

Per quanto concerne gli altri caratteri del sangue negli animali affetti da piroplasmosi, in questo capitolo ci limitiamo ad accennare, che essi si riferiscono, salvo in alcune forme, a quelli di una anemia più o meno grave. Questa trova la sua spiegazione nella distruzione delle emazie da parte dei parassiti.

Diamo una breve descrizione delle diverse babesie, quali si presentano all'esame microscopico del sangue, senza entrare in merito alla esposizione della fenomenalogia delle malattie che sostengono, perchè ciò esorbita dal nostro compito.

La *Babesia Bovis*, si presenta all'esame microscopico in forme variabili. Per lo più ha forma di pera e misura 2,5-3,5 μ di lunghezza e 0,8-1,2 μ di larghezza; si riscontra nell'interno del globulo rosso isolato, o, nel suo aspetto più caratteristico, riuniti due a due per l'estremità più affilata; possono essere anche riuniti a tre a forma di trifoglio e più raramente a quattro a forma di rosetta. Possono trovarsi nello stesso globulo anche due parassiti indipendenti l'uno dall'altro coll'estremità affilata diretta in senso inverso. Alle volte la babesia può assumere un aspetto, o rotondo od ovale o ameboide; le forme rotonde del diametro di μ 1-1,5 possono essere isolate o riunite a due nello stesso globulo; hanno un grosso vacuolo centrale, circondato da un alone protopalsmatico periferico, che talvolta invia sottili propagini a suddividerli in più vacuoli, hanno un nucleo unico ed uno ed eccezionalmente due o quattro punti cromatici (Lubre). I parassiti piriformi hanno protoplasma vacuolare, un nucleo principale e un granulo compatto di cromatina.

I piroplasmi non hanno che leggeri movimenti oscillatorii, secondo alcuni autori le forme ameboidi sarebbero dotate anche di vivaci movimenti di pseudopodi.

Lignières vorrebbe stabilire diverse varietà della babesia bovis secondo le varie forme cliniche.

Raramente si riscontrano babesie libere nel sangue, e di queste soltanto la forma a pera.

La *Babesia Parva* fu prima osservata da Laveran e poi studiata e ben considerata come entità etiologica a sè dal Koch. Essa si presenta nel sangue e le emazie possono essere parassitate fino nella proporzione del 100 %, sotto forma di piccolissimi corpuscoli endoglobulari che misurano 3 μ di lunghezza e 5 μ di larghezza; il nucleo è situato ad una estremità, mentre che l'altra estremità è spesso occupata da un vacuolo. Qualche volta si presentano sotto forma di piccoli elementi rotondeggianti ed ovalari, con sostanza protoplasmatica scarsa e con il cariosoma a ferro di cavallo e grossa

lacuna centrale incolora oppure coll'aspetto piriforme assai allungato (elementi a virgola di Soulié e Roig), nei quali la cromatina è situata nella parte ingrossata.

Il ciclo evolutivo studiato bene da Gouder avviene negli organi interni con una prima fase, la schizogonia agamogena, ed una seconda più tardiva, la schizogonia gamogena, mentre nel sangue circolante e nell'interno dei globuli rossi non si rinvengono che gli elementi figli, i gameti, di cui quelli maschili avrebbero forma bacillare, quelli femminili rotondeggianti. Perciò i parassiti si riscontrano nel sangue solo dopo un certo tempo dacchè è avvenuta l'infezione e mancano nei casi a decorso acutissimo.

Il Carpano nelle sue ricerche etiologiche sulla febbre della costa mediterranea, afferma che questa non è determinata da un solo microorganismo, ma dall'associazione di due distinti ematozoari, i quali agiscono contemporaneamente, o quasi, sullo stesso animale.

Il primo è la *Theileria parva* descritta e il secondo è il *Piroplasma annulatum* o *P. tropicum*, studiato la prima volta da Dschunkowshy e Luhs nella piroplasmosi tropicale della Transcaucasia. Questo parassita oltre le forme ovalari e a pera e le forme bacillari presenta forme granulari e anaplasmatiche e forme rotonde o ad anello, dove la sostanza protoplasmatica è disposta ad anello e racchiude uno od anche due nuclei cromatici, ovalari o a semiluna, messi a guisa di castoni al bordo degli anelli stessi.

La *Babesia mutans*, Theiler 1907, per forma ha le stesse caratteristiche della Babesia parva, perciò volendolo diagnosticare non è sufficiente il semplice esame microscopico. E' necessario tener conto del decorso clinico e del fatto che all'opposto del Piroplasma parvum, essa è trasmissibile inoculando il sangue di animale infetto. L'infezione sperimentale ha un periodo di inoculazione da 13-42 giorni (Theiler).

E' parassita endoglobulare, talvolta può rinvenirsi anche libero nel sangue, però sempre in numero scarso.

Nella *babebiosi equina*, per quanto riguarda l'etiologia, due sono le forme ematozoarie che sostengono la malattia, forme ben individualizzate da Nuttall, Strickaud e Carpano, ecc.,

le quali anche in Italia si possono riscontrare nella stessa enzoozia e qualche volta come una vera forma mista, nello stesso individuo. Esse sono i due emosporidii: *Babesia equi* e *Nuttalia equi.*

La *Babesia equi* appartiene al tipo bigeminum è più grande della seconda ed assomiglia molto alla Babesia bovis. Si presenta sotto forma rotonda, ameboide e a pera. Misura in media 3 - 4 μ × 1,4 μ e quella rotonda ha un diametro di 1,5 - 3 μ.

Le forme rotonde, abbastanza frequenti, assumono per lo più l'aspetto di un anello; le piriformi possono essere contenute nello stesso globulo in numero di una, due, tre ed anche quattro, in questi ultimi casi sono per lo più riunite secondo la parte affilata. Le forme ameboidi o flagellate, molto rare, hanno dimensioni piuttosto grandi e una struttura e conformazione molto irregolare.

Questo parassita vive endoglobulare, raramente si trovano forme libere nel sangue e sono per lo più quelle a pera. Si mette bene in evidenza anche coll'esame a fresco.

La *Nuttalia equi* è un piroplasma molto più piccolo del precedente e si avvicina molto per diversi caratteri alla Theileria parva. Se ne distinguono forme anaplasmatiche, ad anello, a pera, flagellate o ameboidi.

Le prime per lo più sono site al bordo dell'emazia, e raramente sono più di una nello stesso globulo.

Le forme ad anello sono rotonde od ovalari, sono costituite da una massa protoplasmatica e da un nucleo semplice o doppio, polimorfo e talvolta vacuolato. Si rinvengono nella stessa emazia in numero di 1 - 4 ed anche più. Le forme a pera, strutturalmente sono identiche, sono di dimensioni varie più o meno rigonfie, talvolta allungate ed assottigliate a ricordare gli elementi bacilliformi della Theileria parva. Le forme ameboidi a contorni irregolari e di grandezza varia hanno 1,2, e raramente tre pseudopodi o flagelli.

Si riscontrano parassiti endo ed extra globulari. Caratteristico è il reperto di quattro elementi disposti a croce o a rosetta, che stanno a rappresentare uno degli stadii evolutivi del parassita.

Anaplasmosi. — Nel gruppo delle malattie febbrili dei bovini dell'Africa Meridionale, con sintomi uguali o molto vicini a quelli delle piroplasmosi (anemia acuta più o meno grave, febbre, policolia e pleicromia, ittero, ecc.), il Theiler nel 1908 annovera una nuova forma morbosa che denomina Anaplasmosi, dall'agente etiologico che le sostiene l'anaplasma, emoparassita che vive nelle emazie e le distrugge. Tale entità morbosa fu di poi riscontrata anche in altre parti del mondo ed il Carpano ne descrive l'apparizione nei bovini della campagna romana.

Gli anaplasmi sono dei piccoli elementi puntiniformi, coniformi, rotondi, oppure ovali, di dimensioni varie, il loro diametro può misurare da 0,5 a 1,5 μ.

Sono ordinariamente isolati ed occupano normalmente il margine dei globuli rossi, fatto questo che li fece denominare dal Theiler « anaplasmi marginali ». Raramente se ne riscontrano due nella stessa emazia a forma di diplococco, ancor più raramente 3 o 4.

Le forme diplococciche talvolta presentano grandezza diversa nei due elementi che le compongono, che possono esser riuniti da un sottile filamento. Sembra che esistano forme flagellate. Si possono riscontrare anche parassiti che occupano le parti centrali delle emazie, e di questi il Theiler avrebbe voluto fare una varietà a parte, l'anaplasma centrale.

Si riproducono per divisione, con molta rapidità, tanto da riuscire ad invadere fino il 40, 50, 70 °/₀ delle emazie.

Nei preparati a fresco appaiono come punti pallidi, oppure leggeri rilievi sul margine dei corpuscoli rossi del sangue. Nei preparati colorati, dove risaltano meglio, risulterebbero costituiti in totalità di cromatina e sprovvisti di citoplasma.

La coltura dell'anaplasma marginale è stata ottenuta da Veglia, tanto col sangue defibrinato, quanto col terreno impiegato da Carpano per i piroplasmi.

Il sangue di animali ammalati è infettante per i bovini sani.

Il Sieber vorrebbe assimilarli ai clamidozoi.

Pur riconoscendo totalmente l'entità parassitaria degli anaplasmi, occorre molta prudenza nell'interpretazione che bisogna dare al reperto abbastanza frequente di forme anaplastiche nell'interno delle emazie.

Constatazione nel sangue di spirilli.

Nei cavalli e nei bovini le spirochete non rappresentano una entità morbosa nè grave, nè diffusa, difatti finora sono pochissime le forme descritte e di esse ne diamo un brevissimo cenno.

La *spirochaeta o spirillum Theileri*, Laveran 1903, produce una spirochetosi nei bovini del Transwaal; fu trovata da Theiler nel sangue di animali già affetti da piroplasmosi. Lo stesso parassita fu riscontrato da Ziemann al Cameroun. Sarebbe trasmesso da una zecca africana il Boophilus decoloratus.

Queste spirochete, nei preparati a fresco, sono dotate di movimenti rapidi in tutte le direzioni. Nei preparati a secco colorati misurano da 20 a 30 μ di lunghezza per 1/4 o 1/3 o più di μ di larghezza, sono costituite da un vario numero di giri a spirale, secondo la loro lunghezza, hanno le estremità affilate.

Assieme a queste forme tipiche se ne riscontrano altre più piccole, che misurano soltanto 8 μ di lunghezza o che rivestono aspetti molto varii.

I tentativi di inoculazione di sangue infetto a diversi animali ha sempre ottenuto esito negativo, tanto che alcuni autori si sono chiesti se non si trattasse di forme evolutive di piroplasmi.

La *spirochaeta o spirillum tchichir*, fu osservata da Djatshenko in Crimea in una affezione di bovini, conosciuta in paese sotto il nome di tchichir e caratterizzata da febbre e da emoglobinuria. Il citato autore descrive questo parassita sotto forme diverse, ora di filamenti lunghi, diritti o a spirale, ora di filamenti corti a bastoncino o a virgola, ora sotto forma di cellule rotonde.

Le forme multiple del parassita da un lato, i sintomi della malattia dall'altro, spingono alcuni a supporre che si tratti di piroplasmosi e non di spirochetosi. Difatti i piroplasmi rivestono talvolta una forma bacillare.

La *spirochaeta equi* è stata trovata nel sangue del cavallo al Transvwaal da Theiler nel 1904, in Guinea da Martin

nel 1906, dal Stordy nel 1906 nel sangue di un *poney* abissino.

Questo spirillo misura 12 a 15 μ di lunghezza su 0,25 di larghezza e presenta tre o quattro giri di spirale. Rassomiglia molto alla spirochaeta Theileri e Doad pensa che le due specie debbano essere ravvicinate e confuse.

Un caso di *spirochaeta equi*, fu pure osservato e studiato ampiamente in un cavallo della Colonia Eritrea dal Carpano, il quale in alcuni preparati ne trovò abbondantissimi esemplari, come risulta anche da una bella microfotografia aggiunta al lavoro.

Constatazione di embrioni di vermi nel sangue.

La presenza di embrioni di filarie nel sangue dell'uomo è stata spesso riscontrata; negli animali e specialmente nel cavallo e nel bue le osservazioni sono al contrario molto rare.

Embrioni di *filaria sanguinis equi* furono osservati e descritti nel sangue di cavallo da Wedl, Sonsino, Marzanti, Wirth, Mandel, Darmagnac, Lange, Lanfranchi, Lingard, Place, Buffard, Cazalbou. I parassiti adulti vivono nei grossi tronchi vasali dei cavalli ospiti, affissi alle pareti delle arterie, specialmente a quelle dell'aorta anteriore e posteriore, mentre gli embrioni circolano nel sangue. Questi, di dimensioni varie da 160 a 250 μ, sono vermiformi arrotondati ad una estremità che sembra essere l'estremità cefalica, e fortemente affilati a quell'altra; si presentano di aspetto bianco chiaro translucido, con tanti punti oscuri disseminati per tutto il corpo. Sono dotati di movimenti rapidissimi che si effettuano per una specie di retrazione; talvolta si attaccano al vetrino colla estremità cefalica, mentre il corpo e la coda sono animati da movimenti oscillatori veloci che spostano con violenza i globuli rossi. Alla temperatura di 18°-20° conservano la loro mobilità per 12-15 ore.

Nei preparati fissati si colorano bene col bleu di metilene e colla tionina (Darmagnac) ed allora appaiono fortemente punteggiati. La quantità degli embrioni aumenta nelle ore pomeridiane, raggiungendo il massimo dalle ore 18 alle 20,

se ne possono osservare anche 4-5 esemplari per campo microscopico. Durante la stagione calda e piovosa si osservano in maggior copia nel sangue periferico, da dove possono scomparire temporaneamente ed anche definitivamente.

A Lingard e a Darmagnac non è stato possibile ottenere la trasmissione colle inoculazioni di sangue infestato.

Romanowitch nel 1914 osserva costantemente all'esame del sangue prelevato dalla giugulare di cinque cavalli provenienti dall'Africa meridionale ed affetti da bottoni emorragici, la presenza di una microfilaria identica a quella riscontrata nelle goccie di sangue trasudante dai bottoni stessi.

Nel 1916 lo stesso autore dà una più ampia descrizione di questa *filaria haemorragica*, da lui riscontrata.

Afferma che ne riesce bene la messa in evidenza ricorrendo alla colorazione vitale al bleu di metilene o al rosso neutro, oppure cogli altri metodi, previa fissazione. I migliori risultati si ottengono colla fissazione nell'alcool a 70° riscaldato a 60° (procedimento di Loos). La colorazione coll'ematossilina di Böhmer è la tecnica da preferirsi.

Cazalbou, in un bue dell'Africa occidentale affetto da Souma, riscontra 11 volte su sei mesi di osservazione quotidiana del sangue. embrioni di una filaria, che assomigliano per la loro forma a quelli della filaria Bancrofti dell'uomo, ma che se ne distinguono per il fatto che, come quelli della *filaria recondita* del cane, facilmente si attaccano per la loro estremità anteriore, ai vetrini copri o porta-oggetto.

Broeche, in India, nel 1905 osservò due casi con reperto di embrioni di filaria nel sangue di un cavallo vecchio e magro e di giovenche nate da vacche importate dal Bengala.

Per quanto siano parassiti che vivono nel sangue, la bilharzia crassa o schistosomum bovis e lo schistosomum Bomfordi, pure essi non hanno importanza dal nostro punto di vista, perchè le malattie da essi determinate sono diagnosticabili in vita soltanto mediante la dimostrazione delle uova caratteristiche nell'urina, nelle feci o nelle neoformazioni papillari che si possono rinvenire nella mucosa rettale, dimostrazione questa che invece non è effettuabile all'esame del sangue circolante.

Emogregarinosi del bue.

Martoglio e Carpano nella Colonia Eritrea in un vitello di tre anni, di razza indigena, inoculato di peste bovina, su quattro preparati di sangue hanno osservato una diecina di forme emogregariniche. Legras all'esame del sangue di una giovenca algerina di due anni ottenne lo stesso reperto.

Il parassita, Emogregarina bovis, ha forma specifica caratteristica è allungato, leggermente incurvato, le due estremità arrotondate, una di esse più fine dell'altra, le dimensioni sono 6-10 μ per 1-6. Il nucleo, secondo l'osservazione di Martoglio e Carpano è medio ed allungato, occupa la metà o i due terzi della lunghezza del parassita, mentre che Legras ha riscontrato un nucleo quasi circolare ed un po' ravvicinato all'estremità più fine. Secondo gli autori italiani gli orli delle estremità del parassita sono più intensamente colorati, secondo Legras si rileva il contrario.

I fermenti del sangue. Applicazioni diagnostiche.

Diversi sono i fermenti che possono essere messi in evidenza nel sangue. Essi per lo più si producono a spese dei globuli bianchi e sono messi in libertà dopo la distruzione di questi. Conosciamo fermenti proteolitici, fermenti tripsici, amilolitici e lipolitici ed il fermento della fibrina. Si trovano inoltre nel sangue degli antifermenti contro alcuni di questi fermenti (per es. l'antiproteolitico, l'antitripsico, ecc.). Essi servono per la protezione delle cellule organiche.

La ricerca di detti fermenti ed antifermenti del sangue è stata sfruttata a scopi clinici e nella medicina umana ha raggiunto una certa importanza. Dopo che quivi Mueller e Jochmann ed una lunga serie di seguaci, portarono all'argomento validi contributi, Finzi per il primo nel laboratorio del Metchnikoff trasportò nella medicina veterinaria questo metodo di diagnosi studiando dapprima il potere antitripsico del siero nelle diverse specie animali e di poi nei differenti stati patologici.

Per la dimostrazione della presenza nel sangue di fermenti e di antifermenti proteolitici ci si serve delle piastre di siero di Loeffler. Per la ricerca dei fermenti si lasciano cadere alcune goccie di siero sopra la superficie liscia di dette piastre, che vengono poi poste in un termostato a 50°-55° C., (per evitare generazioni di batteri), e si vede che già dopo poche ore si può riconoscere la proteolisi da una ombelicatura, che si è formata nella piastra di siero. Per dimostrare invece la presenza di antifermenti in un siero si mette in evidenza l'azione inibitrice di esso di fronte a un dato fermento. Così ad esempio per l'antitripsico si mescola il siero ad una soluzione di tripsina e della miscela si lasciano cadere alcune goccie sul terreno di Loeffler. Una tale azione inibitrice può anche essere stabilita quantitativamente usando diluizioni del siero ben conosciuto.

Per quanto concerne il potere antitripsico del siero normale di cavallo e bue Finzi ottenne i seguenti risultati: per il primo siero detto potere è rappresentato dal rapporto 1:2 - 1:3; per il secondo 1:3 - 1:4, dove il primo termine indica una goccia di siero, il secondo il numero delle goccie di soluzione di tripsina che dalla prima vengono inibite. Il potere antitripsico di cavalli vecchi è fortemente aumentato (1:5).

Nella tubercolosi bovina, basandosi su una ricca serie di esperimenti, Finzi stabilisce che contrariamente ai risultati ottenuti in medicina umana, l'indice antitripsico del siero sanguigno dei bovini tubercolotici è generalmente inferiore al normale (24 casi su 37), mentre che solo in 4 casi su 37, fu trovata reazione positiva, e non attribuisce ad esso valore diagnostico poichè sieri di bovini affetti da morbo di Johne aventi reagito negativamente alla tubercolina, mostrarono pure indice antitriptico inferiore al normale. Sempre in opposizione ai risultati ottenuti in medicina umana Finzi afferma non essere mai aumentato l'indice antitripsico in cavalli cachettici (104 esaminati) e Mello nei cavalli affetti da tumori maligni di diversa natura. Nelle tripanosomiasi, nel carbonchio ematico, sintomatico ed edema maligno sperimentali studiò l'indice antitripsico del siero il Favero.

È bene ricordare che nei casi in cui vi sia nel sangue un gran numero di cellule mieloidi, contenenti fermento pro-

teolitico, come accade nella leucemia mieloide, la ricerca di esso dà un risultato positivo con una goccia di sangue, mentre che la formazione dell'ombelicatura non si verifica con del sangue normale e con il sangue della leucemia linfatica.

Si dimostra la presenza nel sangue di fermenti amilolitici, facendo uso di una piastra di colla di amido al 10 °/₀ ed invece dei fermenti lipolitici, servendosi di piastre preparate con cera gialla, che abbia il suo punto di fusione a 63° - 64° e che sia stata introdotta in un termostato alla temperatura di 52°.

Il fermento amilolitico e quello lipasico sembrano diminuire considerevolmente negli stati gravi.

Per la dimostrazione dei fermenti ossidanti del sangue si ricorre alla reazione del guaiaco suggerita dal Brandenburg. Una goccia di sangue è sciolta in 2-4 c. c. di acqua distillata, dove i globuli rossi vengono distrutti, sopra si versa uno strato di tintura alcoolica di guaiaco al 5 °/₀.

Quando l'esito è positivo, si forma al punto dove i due liquidi sono a contatto, un anello di colore bleu scuro, che si trasforma tosto in un colore grigio sporco.

La reazione è dovuta appunto alla messa in libertà delle ossidasi, ciò che avviene quando esiste un gran numero di leucociti a nuclei polimorfi (sopra a 20.000 in un millimetro cubico) o di cellule mieloidi. I linfocidi non presentano questa reazione.

La catalasi o fermento capace di decomporre l'acqua ossigenata, in ossigeno molecolare ed in acqua, è dimostrata e dosata nel sangue mediante l'aiuto di apparecchi speciali che portano il nome di catalasimetri. Favero studiando il valore della determinazione del potere catalitico del siero nella diagnosi della morva, conclude negando ad essa importanza diagnostica alcuna, in tale malattia, mentre osserva non esistere relazioni fra l'età e lo stato di nutrizione dell'animale e infine, sembrando che, negli animali febbricitanti aumenti tale potere, questo non sarebbe influenzato dalla leucocitosi.

PARTE QUARTA.

Tecnica microscopica

Numerazione degli elementi figurati del sangue.

E' difficile ad un semplice esame microscopico rendersi conto della quantità anche approssimativa dei globuli rossi, contenuti nel sangue. Neppure nei casi di una notevole anemia, la considerevole diminuzione di essi potrà essere sicuramente stabilita.

Per un giudizio scrupoloso ed esatto è sempre necessario ricorrere al conteggio, per il quale il metodo oggi praticamente usato è quello di Thoma - Zeiss, che ha perfezionato e assorbito quelli precedentemente in uso di Malassez, Hayem, Govvers.

In generale, per il conteggio dei globuli del sangue, è necessario che questo sia convenientemente diluito, stante il loro forte numero. Per la diluizione si usano liquidi che permettono ai globuli di conservare la forma ed i loro mutui rapporti.

Il globulimetro di Thoma - Zeiss è costituito da una pipetta che serve a diluire il sangue e da un vetrino porta-oggetti con camera centrale quadrettata per il conteggio dei globuli.

La pipetta è rappresentata da un piccolo tubo di vetro, il cui tubo capillare presenta due segni, 0,5 e 1,0 e al disopra di questi un rigonfiamento largo in forma di ampolla, al disopra della quale si ha il segno 101 ; così la pipetta è graduata per 0,5 - 1,0 - 101 mmc. ; una pallottolina di vetro si trova libera nell'interno della bolla della pipetta.

Per diluire il sangue normale Thoma aveva consigliato una soluzione acquosa di cloruro di sodio al 3 %, ma rispondono meglio i seguenti liquidi; quello di Hayem:

Acqua distillata	gr.	200
Cloruro di sodio puro . .	»	1
Solfato di sodio puro . .	»	5
Soluzione iodio-iodurata . .	»	0,50

oppure quello di Marcano:

Soluzione di solfato di sodio pesante 1020 . .	c. c.	100
(Solfato di sodio gr. 5 più acqua distill. gr. 100)		
Formolo del commercio al 40 %	c. c.	1

Ad ogni modo Bezançon e Labbé dicono che non si deve usare soluzione fisiologica ordinaria, che non conserva sufficientemente i globuli rossi e che nei casi di poca resistenza del sangue, fornisce cifre inferiori alla realtà, in seguito alla dissoluzione di un certo numero di globuli.

Per il conteggio dei globuli rossi si provvede nel modo seguente: dalla puntura fatta, nel modo ben noto, al labbro o alla base dell'orecchio si aspira colla pipetta del globulimetro fino al segno 0,50 - 1,0, se l'animale è tranquillo e permette di compiere l'operazione con tutta la delicatezza che le è necessaria. Altrimenti prima con una pipetta comune si aspirano pochi c. c. di sangue, si versano in una capsula e da questa si aspira colla pipetta del globulimetro fino al segno voluto, poi pulita bene la punta si aspira il liquido di diluizione fino al segno 101; il liquido si mescola bene, agitando l'apparecchio, si fanno uscire alcune goccie e poi se ne fa cadere una sulla lastrina quadrettata dell'apparecchio di numerazione.

Questo è costituito da un vetro porta-oggetti perfettamente piano, nel cui mezzo è saldata una sottile lamella di vetro rettangolare dalla quale venne tolta la porzione centrale, lasciandovi un foro circolare di circa 11 mm. di diametro, nel quale forò nel vetro porta-oggetti è saldata una seconda lamella di vetro più piccola e più sottile, del diametro di circa 5 mm. Questa lastrina è finamente quadrettata, in modo che ogni quadretto corrisponde ad 1/400

di mmq.; la quadrettatura è divisa per mezzo di un sistema di linee più grosse in 16 quadretti l'uno. La lastrina quadrettata è più sottile di quella forata che costituisce il contorno della cella, così che, fissando un vetrino copri-oggetti sopra questa la superficie inferiore del copri-oggetti dista dalla superficie superiore della lastrina quadrettata 0,1 mm. Quindi nel preparato di sangue la falda del liquido rappresenta in altezza, mm. 0,1 e di conseguenza, ogni quadrettino rappresenta un volume avente mm. 0,1 di altezza e 1/400 di mmq. di superficie, e cioè 1/4000 di mmc. di capacità.

Per la numerazione dei globuli rossi adunque, fatta cadere dalla pipetta una piccola goccia del liquido (sangue diluito) sul centro del porta-oggetti, si ricopre subito col coproggetti, si preme cautamente il copri-oggetti finchè compaiono a tutti e quattro gli angoli gli anelli colorati di Newton, (questi indicano che la camera è chiusa e che ha un'altezza di 0,1 mm.), indi si mette la lastrina sotto il microscopio, e dopo qualche minuto di riposo. per lasciare che i globuli si dispongano in uno strato uniforme, si passa alla numerazione, ad ingrandimento sufficiente (1). Dopo essersi assicurati che i globuli rossi si sono regolarmente distribuiti si procede al conteggio ed è necessario contare i globuli contenuti in un numero piuttosto grande di quadretti, prendendo poi la media dei globuli contenuti in un solo quadretto, poi si fa il calcolo necessario per conoscere quanti globuli siano contenuti in 1 mmc. di sangue. Essendo ogni piccolo quadrato corrispondente ad 1/4000 di mmc., per conoscere quanti globuli rossi siano contenuti in un mmc. di sangue diluito occorrerà moltiplicare per 4000 la cifra media ottenuta dei globuli contenuti in un quadrato: poi siccome il sangue è stato diluito con 100 o con 200 parti di liquido indifferente, secondo che il sangue si è aspirato nella pipetta fino ad 1, o fino a 0,5, bisognerà ancora moltiplicare per 100 o per 200 la cifra ottenuta.

---

(1) Per numerazioni esatte occorre un tavolino porta-oggetti spostabile, mediante una vite micrometrica. Si usano ingrandimenti medii: ordinariamente l'oculare 3 e l'obbiettivo 5; il diaframma ad iride mezzo chiuso; il consensatore di Abbe abbassato, lo specchio concavo.

Per dare un esempio pratico, fissato con n il numero di quadrati esaminati con g il numero sommato dei globuli rossi trovati in ciascun quadretto e dato che il sangue sia stato diluito con 100 parti di soluzione indifferente, la formula per trovare il numero x dei globuli contenuti in un mmc. di sangue sarà rappresentata da $x = \frac{g}{n} 4000 \times 100$. E supponendo che in 200 quadrati siano stati trovati 2000 corpuscoli rossi, si avrà $x = \frac{2000}{200} \times 4000 \times 100 = 4.000.000$, cifra che indica il numero dei globuli rossi contenuti in 1 mmc. di sangue.

Camera di numerazione e pipette devono dopo l'uso essere accuratamente pulite, la prima con acqua, e le pipette con acqua, alcool ed etere. Per asciugarli si possono poi mettere questi oggetti nel termostato od in qualsiasi luogo caldo.

Se i capillari sono otturati da coaguli, questi si possono aspirare con una pompa ad aria o disciogliere con lisciva di potassa o con pepsina cloridrica (in termostato).

Il conteggio dei globuli bianchi si fa nello stesso modo che per i rossi soddisfacendo però a queste due opportune precauzioni: quella di distruggere le ematie e rendere meglio visibili, colorandoli, i leucociti e la seconda procedendo ad una minore diluizione del sangue, perchè salvo nel caso della leucemia, il numero dei globuli bianchi è sempre in numero molto più basso.

Alla prima esigenza risponde molto bene la diluzione fatta in una soluzione di acido acetico al 0,5 °/₀ addizionata di cinque goccie di violetto di metile. Questo liquido distrugge le emazie, conservando intatti i leucociti colorati in violetto.

Come pure rende ottimi servizi il liquido di Toisson, così composto:

Acqua distillata . . .	gr.	260
Glicerina neutra . . .	»	30
Solfato di sodio . . .	»	6
Cloruro di sodio . . .	»	1
Violetto di metile . . .	»	0,025

La diluizione del sangue invece che all'1 °/₀, come per i globuli rossi, si fa al 10 °/₀ e talvolta anche al 5 °/₀. A tale scopo serve una pipetta costruita in modo analogo alla precedentemente descritta, con l'unica differenza che l'ampolla ha una capacità solo 10 volte maggiore a quella del tubo capillare.

Preparata la miscela si procede nello stesso modo che per la numerazione degli eritrociti. E' bene però spingere l'osservazione su tutti i 400 quadratini, onde raggiungere risultati il più possibile esatti. Il calcolo si fa alla stessa stregua che per i globuli rossi.

Nel conteggio dei leucociti può costituire errore di tecnica la circostanza che nelle varietà di sangue contenenti eritoblasti questi vengono contati assieme coi leucociti, perchè la emoglobina, che dovrebbe farli riconoscere per eritrociti, è stata disciolta dall'acido. In tali casi si rettificherà il computo col reperto della formula leucocitaria nei preparati a secco colorati, tenendo conto della proporzione numerica degli eritoblasti.

Oltre quella di Thoma-Zeiss esistono altre camere di conteggio, che per avere una estensione maggiore della superficie ripartita in quadretti, rispondono forse meglio specialmente per il computo dei leucociti. Tali sono quella di Zappert, Elzzholt, Türk, Breuer, Bürker, ecc.

La camera Breuer è suddivisa in nove quadrati, dei quali quello centrale per la sua suddivisione corrisponde in tutto e per tutto alla camera originaria di Thoma e serve per la numerazione delle emazie. Gli altri otto quadrati circostanti tutti, come il centrale di un mmq. di superficie, sono suddivisi da linee parallele in rettangoli, che servono quali unità di conteggio per i globuli bianchi. L'altezza della camera è di 0,1 mm. Questa camera è una delle più semplici da adoperarsi.

L'apparecchio conta-globuli di Buerker presenta il vantaggio, assicurando una più esatta ripartizione dei globuli, che il vetro copri-oggetti può essere solidamente fissato anche prima che la camera contaglobuli sia stata riempita. La miscela di sangue penetra per capillarità nello spazio di conteggio. Il piano di conteggio è oltre a ciò diviso da una lista

trasversale e contiene ai due lati una rete di divisioni così che è possibile fare una numerazione di controllo. Si porta una goccia della miscela tanto da una parte che dall'altra sul bordo del piano contaglobuli, il quale sporge all'infuori del vetro copri-oggetti ed il liquido penetra per capillarità nello spazio della camera conta-globuli.

L'ematimetro di Hayem - Nachet, molto usato in Francia, si compone di una cellula di vetro calibrata della profondità di 1/5 di mm., applicata ad una lastrina di metallo, sulla quale si avvità un tubo che porta un reticolato, con un sistema ottico speciale che proietta l'immagine di questo sul fondo della camera. Questo apparecchio ha il vantaggio che si può spostare a piacere la camera, indipendentemente dalla ripartizione sulla immagine di questa, e così si possono portare nel campo del reticolato di conteggio sempre nuove parti della miscela di sangue. Inoltre le linee del reticolato appaiono nere, il che favorisce il conteggio.

Ad ovviare ai vari inconvenienti che presenta la pipetta o mélangeur Hayem ha proposto di diluire il sangue, misurando la quantità necessaria di liquido diluente in un piccolo vetrino, mediante una piccola pipetta, che, dopo aspirato il liquido, va asciugata all'esterno, indi aggiungendo da una pipetta capillare la quantità di sangue occorrente e mescolando vivacemente almeno per 5 minuti la miscela, con una bacchettina di vetro. Quando si aggiunge il sangue al liquido diluente, bisogna badare che la pipetta capillare venga ben pulita mediante parecchie inspirazioni ed espirazioni del liquido diluente. Inoltre dopo eseguita la miscela anche la pipetta adoperata per la misura del liquido diluente va ben lavata con la miscela, per utilizzare anche il liquido diluente ancora aderente alla sua parte interna.

Nell'*apparecchio di Metz* si usa un oculare speciale, nel quale si trova fra le lenti un disco di vetro, che ha un quadrato nel mezzo ed un anello chiaro attorno, entrambi divisi da una croce nera. La camera impiegata non è dunque graduata.

Presenta i vantaggi dell'ematimetro di Hayem.

Accenniamo ancora ad uno degli apparecchi, che ha pure accolto favorevole applicazione in Francia, quello di Malassez:

la camera graduata, un po' diversa da quella di Thoma, è incassata in una placca metallica. Lo spessore ne è graduato da tre viti sulle quali si appoggia il copri-oggetti, che vi è fissato automaticamente da uno speciale compressore. E' un apparecchio ben perfezionato e risponde nella pratica bene, perchè è scevro da alcune cause d'errore, che permangono in altri.

Infine ricordiamo che nell'uso della camera contaglobuli di Thoma, Burker, ecc., è raccomandabile l'applicazione delle « molle ferma-vetri a pressione » introdotte da Pappenheim.

Per il *conteggio delle piastrine* può servire uno degli apparecchi sopradescritti, ma è molto difficile poter raggiungere risultati esatti, perchè le piastrine, dal momento che il sangue è sottratto al circolo, aderiscono non solo le une alle altre, ma anche agli strumenti che si adoperano per diluire il sangue. Per ottenere risultati attendibili il Bizzozzero ha consigliato di impiegare il primo sangue che esce dalla ferita, di usare un buon liquido fissatore, di impedire l'evaporazione del preparato, circondandolo con olio, di adoperare un obiettivo ad immersione omogenea. Come liquido di diluizione e fissazione il Bizzozzero ha proposto una soluzione di cloruro di sodio al 0,75 °/₀, in cui sia stato sciolto del violetto di metile all'1/5000, oppure una miscela di un volume di una soluzione aquosa di acido osmico al 1 °/₀ con due volumi di soluzione di cloruro di sodio al 0,75 °/₀ : il primo liquido colora le piastrine e le rende più evidenti, il secondo le conserva meglio e più a lungo.

Secondo il metodo di Helber, *la numerazione delle piastrine* viene eseguita in una speciale camera conta-globuli alta 0,02 mm. con un vetrino copri-oggetti dello spessore di 0,1 mm. e ciò dopo aver diluito, per mezzo di una pipetta mescolatrice (di 1 : 31) con una soluzione di metafosfato di sodio, al 10 °/₀ che deve essere preparata fresca almeno ogni 3 giorni. Le piastrine devono trovarsi suddivise tra i globuli rossi in modo uniforme; il sangue non deve diventare di color rosso lacca in contatto colla miscela. Per potere fare la numerazione è necessario un ingrandimento di almeno 1000 diametri.

La numerazione delle piastrine non ha tuttavia che uno scarso valore clinico, specialmente perchè le cognizioni sulle piastrine sono ancora molto limitate, e si ignora in parte il valore di questo elemento del sangue, sia in condizioni normali, che patologiche.

Per risolvere la questione, che specialmente in medicina veterinaria ha una speciale importanza nella pratica professionale, della eventuale necessità di procedere al conteggio dei globuli sanguigni in ambiente lontano da quello ove il sangue è stato prelevato e dopo un certo tempo dacchè è stata eseguita l'operazione il Sahli ha suggerito due mezzi: quello di eseguire le miscele da conteggio sopraluogo e poi racchiuderne alcune goccie in capillari di vetro oppure prelevando il sangue non diluito, aggiungendovi qualche sostanza anticoagulante.

Il primo metodo può servire soltanto se il tragitto è brevissimo, perchè altrimenti i corpuscoli sanguigni nelle miscele si ammassano ben presto. Come sostanza anticoagulante il Sahli consiglia meglio di ogni altra l'irudina, che spiega efficace azione conservatrice anche sulle piastrine e sui leucociti, oppure l'ossalato di ammonio, essendo la prima difficile a trovarsi e di prezzo assai elevato. Basta mettere qualche piccolo granello di una di queste sostanze sui lembi della ferita provocata per la presa del sangue, in modo che questo venga immediatamente in contatto con quella. Si aspira poi una goccia di sangue, dopo averla ancora un po' mescolata con la sostanza anticoagulante, in un capillare facendo il possibile che la colonna di sangue stia nel mezzo di esso, senza venire in contatto cogli estremi. Gli estremi del capillare vengono saldati sopra una lampada.

Per il conteggio si esegue la miscela col sangue defluito in un vetrino da orologio, avendo rotto le estremità del capillare. Con questo metodo, afferma il Sahli, in medicina umana possono ottenersi buoni risultati anche dovendo esaminare il sangue lontani dal letto dell'ammalato. Ne abbiamo voluto parlare perchè ci sembra possa esser raccomandato specialmente per coloro che non hanno la possibilità di procedere all'esame completo sul posto di prelevamento del sangue.

Riguardo alla tecnica delle numerazioni dei corpuscoli sanguigni ricorderemo ancora che nei laboratori, ove è abituale l'uso della microfotografia, si può ricorrere a questa per fotografare i campi di conteggio. Sulle positive od anche sulle negative si segnano con tutta comodità singolarmente i globuli, che vengono così contati colla più sicura precisione.

Allestimento ed esame dei preparati a fresco.

Prima di allestire preparati fissati e colorati è bene, in ogni caso, fare un preparato a fresco. La tecnica nè è cosi semplice e l'utilità così grande che esso non deve essere trascurato in nessun caso. Una condizione importantissima è che il copri-oggetti e il porta-oggetti siano pulitissimi. È raccomandabile di preferire a ogni altro mezzo di pulitura un panno asciutto, perchè facendo uso di etere è facile che i grassi in questo disciolti formino un sottile strato sul vetrino (Schmidt). Allorchè i vetrini sono puliti si prepara, secondo le regole suggerite, poi si incide con una lancetta e si lascia che il sangue esca senza compressione Si tolgono le prime goccie di sangue, indi si prende il copri-oggetti per due angoli opposti e si tocca con esso rapidamente la sommità della goccia di sangue, senza toccare la pelle o la mucosa incisa, in modo che sul vetrino resti una gocciolina della grandezza di una testa di spillo.

Riteniamo utile ripetere a questo punto che il sangue deve uscire spontaneamente dalla ferita senza che sia necessaria una compressione sulla parte, perchè con questa si potrebbero produrre delle alterazioni sui globuli che potrebbero costituire errori di interpretazione.

Il vetrino si lascia quindi cadere sul porta-oggetti e la distensione del sangue deve farsi da sè. È necessaria una certa rapidità perchè il copri-oggetti al contatto delle dita facilmente si appanna e allora il preparato si guasta ed anche per impedire l'evaporazione. Se la tecnica è buona e se la goccia non è troppo grossa il sangue si stende in un sottilissimo strato regolarmente da ogni lato fra copri-oggetti e porta-oggetti in modo che anche coi più forti ingrandimenti

ogni corpuscolo giace distinto presso gli altri. Questi preparati permettono lo studio di molti particolari, specialmente nei globuli rossi e si prestano anche alla ricerca dei parassiti del sangue. I preparati bene eseguiti presentano all'esame tre zone, una centrale con globuli rari, una media con i globuli ben sparsi, una periferica con i globuli avvicinati e costituitisi in pile di monete. Le prime due zone sono quelle che si prestano meglio per la ricerca e l'esame dei parassiti.

Nei preparati eseguiti bene si può riconoscere innanzitutto la diversità di grandezza dei corpuscoli rossi, la loro diversità di forma e anche la diversità di colorito, e queste particolarità di solito procedono parallele in certe malattie del sangue, come vedesi nella anemia infettiva.

Un osservatore ben pratico potrà ancora riconoscere altre eventuali modificazioni a carico degli elementi figurati del sangue.

È bene prendere in considerazione l'avvenuta o mancata formazione delle cosidette pile di monete degli eritrociti, che in condizioni normali per la conformazione a biscotto di essi e per la viscosità del sangue si presentano sempre.

Siccome la costituzione delle emazie in rotoli di monete deve essere influenzata dal numero delle emazie stesse, si comprende senz'altro che presentandosi diminuita o mancando in un preparato regolarmente eseguito, è lecito avanzare la diagnosi di una probabile diminuzione delle emazie stesse.

L'esame di preparati di sangue a fresco non serve per lo studio dei nuclei e delle varie specie di leucociti. Con questi preparati si possono mettere in evidenza le piastrine del sangue se si pone nella parte ove si produce la ferità, per l'uscita del sangue, una goccia di acido osmico all'1 °/₀ e se si punge attraverso ad essa.

Insistiamo sulla necessità di compiere l'esame del preparato appena questo è pronto, evitando ogni compressione o spostamento del copri-oggetti che darebbero luogo facilmente a prodotti artificiali.

Volendo conservare i preparati per brevissimo tempo, a scopo dimostrativo si possono paraffinare i margini del vetrino copri-oggetti.

Allestimento dei preparati a secco. Strisci, essicamento.

Il punto di partenza dei preparati a secco è quello di stendere uno strato di sangue il più che sia possibile sottile ed uniforme sopra vetrini copri-oggetti e porta-oggetti. Prima erano usati soltanto i primi, ora, e con certi vantaggi, si ricorre anche ai secondi.

E necessario i vetrini siano molto bene puliti e sgrassati, come ad esempio, lasciandoli insistentemente in acqua di sapone, poi in acqua corrente, per conservarli in alcool a 90° ed al momento dell'uso asciugarli molto accuratamente con una pezzuola di lino sprovvista di peluria.

Avanti di procedere ad eseguire strisci è bene aver preparato un certo numero di vetrini ed averli comodamente a portata di mano. Per i vetrini copri-oggetti si procede nel seguente modo: si raccoglie una piccola goccia di sangue nel mezzo di un vetrino e si lascia cadere quest'ultimo, colla parte bagnata di sangue su un altro vetrino copri-oggetti, in modo che le punte di uno vengano a trovarsi a sporgere sul bordo dell'altro, si trovino cioè sovrapposti a stella. Appena la goccia si è allargata, si sfila un vetrino dall'altro e si ottengono così due strati sottili di sangue.

E' consigliabile di servirsi nel maneggiare i vetrini delle note pinzette di Ehrlich, con branche large sottili in avanti quasi come coltelli, che permettono una buona presa, ma ad ogni modo il metodo non varia essenzialmente.

Sui vetrini porta-oggetti si possono ottenere dei buoni strisci sollevando una goccia di sangue collo spigolo diritto e liscio di un vetrino copri-oggetti o di un porta-oggetti che si posa poi obliquamente su un porta-oggetti, così che la goccia di sangue viene a trovarsi in angolo acuto di 45°, formato dai due vetrini. Il sangue tende subito ad espandersi lungo la superficie di contatto e può quindi essere disteso, se si sposta il vetrino copri-oggetti in avanti nella direzione dell'angolo ottuso, oppure all'indietro nel senso opposto. Nel primo caso gli elementi figurati del sangue sono uniforme-

mente distesi per capillarità e per attrito, nel secondo solo per capillarità. Entrambi i metodi sono buoni. Il secondo ha il vantaggio di non arrotolare nè comprimere gli elementi, ma permette meno facilmente di regolare lo spessore dello striscio.

Invece del vetrino copri o porta-oggetti per prelevare la goccia di sangue, può servire pure un cartoncino di consistenza sufficiente quale quella di un cartoncino da visita, per quanto alcuni autori consiglino di proscrivere questo metodo perchè il cartoncino assorbe il plasma e può trattenere leucociti ed emazie parassitate.

Ancora può servire per strisciare la goccia di sangue un ago di metallo o una pipetta di vetro affilata o distensori metallici appositamente proposti, ma sono tutti da sconsigliarsi perchè dànno strisci troppo sottili e troppo larghi.

Come pure è da proscriversi il metodo di distendere il sangue sovrapponendo i due porta-oggetti come si usa per i piccoli vetrini.

In un preparato eseguito accuratamente i globuli debbono essere ripartiti in un solo strato e separati gli uni dagli altri senza ricoprirsi nè formare ammassi; la goccia di sangue deve essere distesa interamente, perciò è necessario che non sia troppo grossa, altrimenti il copri-oggetti trattiene coll'eccesso di sangue la più parte dei leucociti, delle emazie parassitate, delle filarie, ecc., da cui eventuali errori di diagnosi.

I leucociti a nuclei polimorfi, che hanno un peso specifico più leggero, si dispongono volentieri, quando lo strisciamento sia stato fatto lentamente, alle parti vicino al bordo, per cui si deve sempre esaminare tanto la parte centrale che quella vicina ai bordi.

Talvolta lo striscio non riesce bene specialmente in quei casi nei quali il sangue è fortemente anemico o leucemico. Anche per ciò, oltre che per altre ragioni, è sempre opportuno eseguire un numero discreto di preparati.

Una volta eseguiti gli strisci come abbiamo indicato, si lasciano essicare da sè all'aria, ciò che di solito avviene molto rapidamente. Per affrettare questo fenomeno, quando tarda a verificarsi come specialmente nel sangue idroemico, si può agitare fortemente il vetrino all'aria, oppure venti-

larvi sopra un pezzo di cartone, ecc. Un rapido essicamento è indispensabile per una buona conservazione della forma dei globuli e dei parassiti. Esso non deve mai essere ottenuto riscaldando il preparato.

I preparati essiccati si conservano per molto tempo, purchè non siano stati fissati. E' solo necessario che siano tenuti al riparo dell'umidità. E' certo che la colorabilità degli strisci diminuisce di mano in mano che invecchiano, tuttavia con i processi di Pappenheim (metodo panottico), si può, prolungando la colorazione per un'ora, ottenere risultati buoni.

Pappenheim consiglia di trattare per 24 ore con acqua distillata i vecchi strisci non colorati fissati. Si colora in seguito, senza fissazione, col May-Grümvald allungato con eguale volume d'acqua, poi col Giemsa, come nel metodo panottico (pag. 121).

Langeron recentemente per ricuperare efficacemenle i vecchi strisci divenuti incolorabili, ha proposto di ricorrere al perossido di benzolo operando nel seguente modo:

fissare per 15'-20' in una soluzione

Perossido di benzolo . .	10
Acetone	100

oppure:

Perossido di benzolo . .	12
Piridina	100

lavare 10' in una soluzione di acetone 3 parti, xilolo 2 parti. Lavare 30"-1" in alcool metilico puro. Colorare col metodo panottico di Pappenheim.

Fissazione dei preparati a secco e fissazione dei preparati umidi.

Quando gli strisci siano stati essicati all'aria il più delle volte è necessario che essi vengano fissati affinchè gli elementi possano impunemente essere sottoposti alle varie manipolazioni, talora complesse, delle colorazioni, senza che essi in nessun modo debbano subire alterazioni.

La fissazione dei preparati può essere ottenuta in diversi modi. Prima di tutto quello del calore proposto da Erlich, è raccomandabile perchè permette poi l'applicazione delle più svariate colorazioni.

Per attuarlo ci si può servire dei comuni forni a secco ove la temperatura è portata a 110°-120°. Victor Meyer ha costruito delle apposite stufette speciali le cui pareti sono costituite da una intercapedine nella quale per due terzi della sua capacità si introduce del toluolo. Questo fatto bollire, avendo un punto di ebollizione a 111° mantiene nell'interno della stufa una tale temperatura.

Occorrendo una temperatura maggiore si sostituisce il toluolo, collo xilolo che bolle a 139° o col terpinolo che bolle a 150° oppure con miscele di acqua e glicerina, essendo il punto di ebollizione della glicerina pura a 290°.

In dette stufe si lasciano i preparati essicati prima all'aria per mezz'ora, una fino a due ore.

La fissazione al calore può essere pure ottenuta ricorrendo ad un tavolino costituito da una lamina di rame che si riscalda ad una estremità con una lampada Bunsen. Ci si rende conto del calore raggiunto dai varii punti della lamina lasciandovi cadere sopra delle goccie d'acqua mediante una pipetta. Ove la goccia d'acqua non si allarga ma diventa sferica e si arrotola sul tavolino la temperatura è troppo elevata per porre subito su quel punto il vetrino da fissare, al quale punto si giungerà gradatamente applicando dapprima il preparato su un punto ove la goccia d'acqua si allarga e scompare rapidamente senza divenire sferica. Si lascia il vetrino per 20''-30'' circa nel punto più caldo ove la temperatura raggiunge circa i 140°. Questo tavolino dà buoni risultati perchè la temperatura vi si conserva abbastanza costante ed il suo uso è semplice ed economico.

Oltre al metodo del riscaldamento, è raccomandato per il fissaggio dei preparati a secco l'uso di agenti chimici che enunciamo:

Alcool assoluto ed etere a parti uguali in cui gli strisci essicati all'aria si lasciano per la durata di due ore.

Alcool metilico, ove la fissazione avviene in 3'-5'.

Alcool assoluto, per 15'-10'.

Formalina, colla quale si possono fissare i preparati sia facendo agire su di essi direttamente una soluzione alcoolica all'1 % per un minuto, sia usando una soluzione acquosa all'1 % coll'aggiunta di glicerina al 5-10 %, sia ancora fissando direttamente con i vapori.

Acido osmico, facendone agire i vapori all'1-2 %. Durroux in considerazione alla facile vulnerabilità del sangue di cavallo raccomanda di fissarlo, sottoponendolo, ad essicazione avvenuta all'aria libera, ai vapori di acido osmico per 30 minuti.

Ricordiamo che ricorrendo a certi metodi di colorazione non è necessaria una preventiva fissazione, per il fatto che questa avviene mercè la presenza di fissativo nella sostanza colorante stessa.

Allo scopo di evitare alcuni inconvenienti dovuti all'essicamento alcuni autori ricorrono alla fissazione degli strisci di sangue, quando questi sono ancora umidi ricorrendo specialmente ai vapori di acido osmico oppure ad alcuni liquidi fissatori usati nella tecnica istologica quali il liquido di Zenker, di Hermann, di Flemming, di Foà, ecc.

Il metodo di Weidenreich consiste nel fissare il sangue prima che venga disteso, nel modo seguente: in una scatola ermeticamente chiusa si versano 5 c.c. di osmico all'1 % con 10 goccie di acido acetico cristallizzato; si espone prima il vetrino per due minuti ai vapori osmici, poi si striscia il sangue, e senza essicarlo, si riespone ai vapori per un minuto. Indi si lascia essicare e si fissa coll'alcol assoluto per 10 minuti; si lava per un minuto in permanganato di potassio molto diluito (2 goccie di soluz. all'1 % in 15 c.c. d'acqua). Si lava all'acqua corrente, si lascia asciugare e si colora col Romanovsky.

Esame del sangue secco non colorato.

I preparati a secco non colorati possono servire per le osservazioni microscopiche, nel qual caso è necessario l'uso di obiettivi a secco molto forti.

Su questi preparati è possibile esaminare la forma e le dimensioni delle emazie, i leucociti e gli ematoblasti e l'eventuale presenza di pigmenti anormali.

I globuli rossi appaiono come dischi arrotondati od ovalari di una tinta giallastra, di cui i bordi sono un po' più colorati che non il centro e danno l'impressione di essere più spessi.

I leucociti appaiono scarsi ed isolati nel campo microscopico, sono più grossi, incolori e rifrangenti, vi si può scorgere il nucleo più scuro del protoplasma.

Le piastrine si presentano nella forma loro irregolare isolate o in ammassi, esse pure incolore e rifrangenti.

Questi preparati permettono di mettere in evidenza i cambiamenti morfologici degli eritrociti, di apprezzare approssimativamente una diminuzione o un aumento dei leucociti e la ricchezza o meno delle piastrine.

In medicina umana essi rispondono bene anche per la messa in evidenza dei pigmenti di emosiderina e di melanina, i quali frequentemente sono stati osservati liberi nel plasma o inglobati dai leucociti nelle forme di malaria. Nepven ha dimostrato che anche nei tumori melanotici la melanina può essere messa in libertà nel sangue in seguito alla distruzione delle cellule tumorali, sotto forma di fini granulazioni nerastre e la loro presenza nel sangue può essere indizio di generalizzazione del neoplasma. Questo fatto osservato per l'uomo è probabile abbia una analoga rispondenza nelle forme di melanosi dei cavalli e bovini, tanto frequenti nei primi coperti da mantello grigio.

Noi avevamo dimostrato l'utilità che può avere l'esame di strisci semplicemente essicati fatti con pus rilevato da lesioni linfosporidiotiche e botriomicotiche, ora abbiamo voluto renderci conto dell'eventuale importanza, di fronte alla diagnosi batterioscopica, degli strisci di sangue semplicemente essicati. Strisci di sangue prelevati da cavie sperimentalmente infettate di carbonchio, ci permettono di affermare che la loro applicazione può essere raccomandata per questa malattia. Difatti i bacilli carbonchiosi appaiono incolori, rifrangenti, colle loro caratteristiche morfologiche, compresa quella dell'evidenza della capsula del Serafini.

Altrettanto abbiamo voluto vedere per strisci di sangue di cavie infettate di tripanosoma e per strisci di gatto affetto di piroplasmosi. Il reperto in questo ultimo caso ci fu assolutamente

negativo, nel primo molto incerto, si intravvede la morfologia del parassita, ma senza nessuna delle sue caratterische: nucleo, centrosoma, membrana ondulante, flagello. Non riteniamo quindi poter in questo caso attribuire valore semeiologico a questo metodo d'esame.

Generalità sulle colorazioni e sulla loro tecnica.

La diversa affinità delle cellule e delle parti costitutive delle cellule per le sostanze coloranti è la base su cui si fonda la possibilità di ottenere risultati più profondi e più completi, mediante l'esame dei preparati colorati, nello studio della struttura degli elementi cellulari. La facoltà insita a certe sostanze cellulari, per es. i granuli o il nucleo, di assorbire soltanto determinate sostanze coloranti, di colorarsi pertanto elettivamente con esse, se non è perfettamente conosciuta nella sua intima essenza, secondo alcuni autori (Michaelis) è da attribuirsi a proprietà chimiche di queste sostanze, secondo altri (Fischer, Witt) a processi puramente fisici, fornisce tuttavia preziosi elementi di giudizio durante le osservazioni microscopiche, dei preparati di sangue a secco colorati. « I quali, scrive il Sahli, oltre mettere in luce le grossolane proprietà morfologiche e tintorie dei nuclei e del protoplasma degli elementi cellulari del sangue, debbono dare anche specialmente nozioni intorno alle granulazioni scoperte da Ehrlich nel protoplasma dei leucociti. Ehrlich ha assoggettato queste granulazioni ad uno studio analitico di colorazione, ed ha trovato che esse, in determinate miscele di colori, si lasciano colorare in modo elettivo e diverso. Ehrlich divide i colori di anilina utilizzabili per i suoi scopi, ed i quali, come è noto, costituiscono per lo più chimicamente dei sali, in acidi quelli in cui la proprietà colorante poggia sugli acidi; in basici, quelli in cui essa poggia sopra basi; ed in neutri, in cui così la base come l'acido possiede proprietà colorante. Tipi dei colori acidi utilizzabili nelle colorazioni istologiche sono l'eosina e la fuxina acida, tipi di colori basici il bleu di metilene ed il verde di metile, mentre il picrato di rosanilina rappresenta un colore neutro. Orbene, Ehrlich ha trovato che certe gra-

nulazioni dei corpuscoli bianchi del sangue si colorano soltanto con colori basici, altre solo con colori acidi, mentre un terzo gruppo si lascia colorare dagli uni e dagli altri, ed un quarto possiede affinità solo per i colori neutri. Perciò Ehrlich distingue: granulazioni *oxifile* od *eosinofile* (α), granulazioni *anfofile* (β), granulazioni *basofile* (γ e δ), granulazioni *neutrofile* (ε). La differenza fra γ e δ risiede principalmente nella grandezza delle granulazioni; la granulazione δ è la cosidetta granulazione delle Mastzellen, la quale si distingue da tutte le rimanenti, oltre che, per il suo carattere basofilo, per la rilevantissima grandezza dei granuli. Secondo Ehrlich, ogni leucocito contiene una sola specie di granuli; però nei casi patologici si presentano delle eccezioni ».

Nelle colorazioni del sangue possono essere impiegati metodi di *colorazioni semplici*, metodi di *colorazioni combinate* e metodi di *colorazioni panottiche.* I primi sono quelli che si espletano coll'impiego di colori semplici acidi o basici; quelli acidi colorano elettivamente le sostanze protoplasmatiche, quelli basici le sostanze nucleari. Secondo la loro natura i colori semplici sono *monocromatici* o *metacromatici*: nel primo caso tutti gli elementi sono tinti nella tonalità del bagno colorante, mentre che, nel secondo, alcuni assumono la tinta del colorante altri virano il colore verso un tono differente.

Nelle *colorazioni combinate* sono impiegati colori diversi sia successivemente che simultaneamente. Nelle colorazioni successive, ciascun colore semplice può agire per proprio conto e fissarsi su un elemento dato oppure agire non soltanto come colorante, ma anche come differenziatore.

Nelle *colorazioni simultanee*, ogni elemento agisce generalmente per proprio conto. Esempio delle colorazioni simultanee è quello fornito dal triacido di Ehrlich.

Le *colorazioni panottiche* non vanno confuse colle colorazioni combinate, perchè in queste non entrano in azione dei coloranti basici o acidi, ma gli agenti di esse sono dei colori neutri. Lo scopo delle colorazioni panottiche è di mettere in evidenza il più gran numero possibile di elementi, con una grande varietà di toni. Questo metodo nello studio del sangue e dei protozoari ha acquisita una importanza capitale.

Come vedremo il tipo delle colorazioni panottiche è il me-

todo di Romanowsky, modificato dai metodi di Giemsa e Pappenheim, nei quali la colorazione è dovuta all'eosinato d'azzurro di metilene ed all'eosinato di bleu di metilene.

I fenomeni di metacromasia hanno un ufficio importante nelle colorazioni panottiche e contribuiscono ancora a distinguerle dalle colorazioni combinate.

Richiamate così succintamente queste elementari nozioni generali sulle colorazioni, una più ampia trattazione esorbiterebbe dai nostri compiti (1), prima di ricordare i più comuni metodi di colorazione del sangue, accenniamo alle regole generali sulla tecnica colla quale le colorazioni debbono essere eseguite, riservandoci di esporre le particolarità inerenti ad alcuni metodi, trattando di questi.

I preparati eseguiti su vetrini coprioggetti già fissati vengono messi in una capsulina di vetro o in un vetrino da orologio contenente la soluzione colorante o meglio si posano sulla superficie della soluzione rivolti all'ingiù, in modo che la sola faccia sulla quale è strisciato il sangue è a contatto col colore, oppure, per risparmiare questo, il vetrino è posto capovolto nel cavo del vetro da orologio e sotto ad esso si fa scorrere il colore coll'impiego di una pipetta. In questi due ultimi modi si evita che i precipitati della sostanza colorante, che col tempo possono formarsi, abbiano a depositarsi sul preparato stesso e disturbare quindi la bellezza della colorazione. Ancora il vetrino può esser preso con una pinzetta di Cornet, lasciandovi poi cadere sopra alcune goccie della soluzione colorante fino a coprirlo; questo metodo si userà solo nelle colorazioni che esigono brevissima durata, altrimenti la soluzione può essicarsi o produrre precipitati.

I preparati eseguiti su vetrini portaoggetti possono pure essere immersi nella soluzione colorante oppure questa essere versata a goccie, fino a coprirli, su di essi. Ad evitare il deposito sul preparato di precipitati, i vetrini possono essere

---

(1) Rimandiamo alle pregevoli opere del Mann, del Michaelis, dell'Ehrlich, Krauss, Mosse e Rosin ed alle più recenti del Pappenheim, del Ferrata, ecc., il lettore desideroso di approfondire l'importante questione.

posti perpendicolarmente in vasi cilindrici o rettangolari, contenenti le soluzioni coloranti, oppure posti colla parte spalmata all'ingiù, in una scatola Petri, ove dei pezzetti di vetro costituiscono degli appoggi e la sostanza colorante affiori gli strisci.

Eseguita la colorazione i preparati vengono lavati abbondantemente con acqua, asciugati con carta bibula, poi asciugati ancora all'aria, alla temperatura ambiente o in vicinanza di una fiamma, indi esaminati o in xilolo o, se vogliono essere conservati, inclusi in balsamo del Canadà neutro. Invece di usare la carta bibula per asciugare i preparati è bene agitarli fortemente all'aria per scacciare tutta l'acqua, perchè si evita in tal modo che rimangano sul preparato sottili peli che costituiscono le peluria della carta stessa.

L'osservazione del preparato di solito è fatta coll'obbiettivo ad immersione e con diaframma aperto. I preparati eseguiti su porta-oggetti non richiedono di essere ricoperti dal coprioggetti, ma ricevono direttamente l'olio di cedro, che potrà essere allontanato con xilolo, volendo conservare il preparato. Ora veniamo ad esporre i più comuni ed i migliori metodi di colorazione, che furono da noi frequentemente usati, ottenendone risultati efficacemente dimostrativi e che sono quelli più raccomandabili, perchè forniscono i più preziosi ragguagli a chi abbia preso possesso della talora delicata loro tecnica di esecuzione. Crediamo opportuno accennare che a supplire la mancata provvigione, determinata dalla guerra, di sostanze coloranti provenienti da case commerciali tedesche ed in particolare dalla ditta Grübler di Lipsia, va intensificandosi ora in Italia l'encomiabile sforzo da parte di Istituti scientifici e commerciali di produrre reagenti coloranti nazionali, alcuni dei quali, che noi pure avemmo modo di sperimentare largamente, rispondono al loro scopo lodevolmente.

Colorazioni semplici.

Il metodo più usato di queste colorazioni è quello al bleu di metilene. Si usano soluzioni acquose all'1 % di bleu di metilene medicinale purissimo, eventualmente anche il

bleu di metilene alcalino di Löffler. Durata della colorazione: rispettivamente un minuto o 5-10 secondi. Questa colorazione è sopratutto adatta per mettere in evidenza la policromasia e le granulazioni basofile degli eritrociti. Gli eritrociti normali vengono colorati assai debolmente e leggermente in verde, i policromatici spiccano assai chiaramente per la loro colorazione bleu più intensa. Naturalmente si colorano intensamente in bleu anche le parti basofile dei leucociti, specialmente i nuclei, nonchè il protoplasma dei linfociti.

Altri metodi di colorazione semplici, quali erano quello per le granulazioni basofile dei leucociti con una soluzione idro-alcoolica di dalia e quello per la dimostrazione delle granulazioni eosinofile con una soluzione alcoolica-glicerica di eosina, ora sono generalmente abbandonati.

Un metodo di colorazione estremamente semplice merita di essere ricordato è il *metodo di Burri all'inchiostro di china,* che dà immagini perfettamente analoghe a quelle che si osservano colla illuminazione a fondo nero e permette in alcuni casi, quale la ricerca di parassiti, di supplire all'assenza di un ultramicroscopio.

Si depositano sopra un vetrino portaoggetti una piccola goccia di sangue ed una di inchiostro di china, si mescola accuratamente, si striscia, si lascia asciugare agitando all'aria, e si esamina al microscopio (Witiens). Ci siamo resi conto della bontà del metodo specialmente nella messa in evidenza di tripanosomi in sangue di cavia sperimentalmente infettata.

Colorazioni combinate e panottiche.

Colorazione con ematossilina-eosina. — Questo è un metodo di colorazione combinata successiva, perchè i preparati si pongono prima in una soluzione satura di eosina in glicerina fenica al 5 °/₀, dalla quale tolti immediatamete si lavano con acqua e si colorano in secondo tempo coll' ematossilina Delafield, diluita della metà. Si lava abbondantemente, si asciuga all'aria e si include in balsamo del Canadà. È un metodo proposto da Rieder, è molto semplice e serve per stabilire le proprietà più grossolane degli elementi sanguigni:

i corpuscoli rossi e le granulazioni eosinofile sono rosso intenso, i nuclei e le mitosi bleu scuro, il protoplasma dei leucociti violetto o rossastro.

Colorazione col verde di metilene e pironina, secondo Pappenheim. — Si fissa col calore e coll'alcool. Si colora per 5-10 minuti in una mescolanza di 15 parti di una soluzione acquosa all'1 °/₀ di verde di metile (più 0,25 di acido fenico liquido) e 35 parti di una soluzione acquosa all'1 °/₀ di pironina (più 0,25 di acido fenico liquido).

Questa combinazione di due sostanze basiche serve magnificamente per mettere in risalto tutti gli elementi componenti basofili del plasma, specialmente il protoplasma dei linfociti, che vengono colorati colla pironina in rosso splendente, mentre il verde di metilene colora solamente la cromatina. Anche i nucleoli sono colorati in rosso.

Colorazione colla soluzione triacida di Ehrlich. — La soluzione triacida, che era messa in commercio già pronta dalla casa Grübler di Lipsia, è costituita secondo la seguente formula:

Soluzione acquosa satura di Orange G . .	cc.	120-135
» » » » Fuxina acida	»	80-155
» » » » verde di metile	»	125
Acqua	»	300
Alcool assoluto	»	200
Glicerina	»	100

Preparata la soluzione deve essere lasciata in riposo per molte settimane prima di poter essere usata e non deve essere agitata prima dell'uso.

Per questo metodo di colorazione la fissazione al calore alto va preferita nettamente a quella in alcool etere. Si versano sul vetrino alcune goccie di triacido fino a coprirlo completamente; dopo cinque minuti lavatura con acqua corrente, finchè l'acqua non toglie più colore. Essicamento ed ulteriori operazioni nel modo solito.

La colorazione triacida è il metodo migliore per mettere in evidenza le fine granulazioni neutrofile dei leucociti a nucleo polimorfo e dei mielociti. Queste appaiono rosso-violetto, i granuli eosinofili color rosso-mattone intenso, i nuclei

dei leucociti dal verdognolo al bleu, poco netti. Gli eritrociti sono color arancio, i granuli delle mastcellule rimangono scolorati.

Pappenheim ha proposto di sostituire al verde di metilene il bleu di metilene, onde colorare meglio il nucleo, ma in tal modo le granulazioni riescono meno evidenti, per cui Sahli preferisce invece, per questo scopo, dopo espletata la colorazione al triacido, eseguire una seconda breve colorazione con una soluzione acquosa diluita al 1/4 % di bleu di metilene. Così, oltre i nuclei, vengono ben colorate anche le granulazioni delle mastcellule.

Colorazione con bleu di metilene-eosina acida secondo Jenner e May-Grünwald. — Questa colorazione dovrebbe attualmente godere del massimo favore specialmente presso i pratici. I vantaggi del metodo stanno in primo luogo in ciò, che non è necessaria alcuna fissazione con che si risparmia del tempo. La sostanza colorante è sciolta in alcool metilico, sicchè durante la colorazione avviene anche la fissazione. Siccome poi si tratta di una colorazione combinata con sostanze coloranti basiche (bleu di metilene) ed acide (eosina), vengono colorate distintamente quasi tutte le parti costitutive importanti delle cellule del sangue: nuclei, granuli, protoplasma. Ne risultano quadri di bellissimi colori, assai istruttivi.

Il principio colorante è un sale, il bleu di metilene-eosina, che nella colorazione evidentemente si dissocia di nuovo in eosina e bleu di metilene.

I preparati freschi, essicati all'aria, vengono collocati nella soluzione colorante, meglio di tutto entro una capsula e vi vengono lasciati per tre minuti; essi vengono quindi portati in acqua distillata, alla quale furono aggiunte alcune goccie di colore e vi vengono agitate, per cui piano piano essi perdono il loro colore bleu e compare il colore rosso; si prosegue nell'operazione finchè il preparato non abbia preso un bel colore rosso-chiaro, dopo di che si estrae e si asciuga. I preparati sono pronti per l'osservazione.

I preparati di sangue più vecchi devono essere colorati per più tempo. Secondo Naegeli, essi vengono fissati per 10'-20' in alcool assoluto e colorati quindi per 5-15 minuti in una parte di colore e due parti di acqua distillata.

Gli eritrociti vengono colorati in rossastro, i nuclei in bleu, le granulazioni basofile in bleu violetto, i granuli acidofili in rosso lucente, i neutrofili in violetto rossastro debole, le piastrine in violetto grigio; le sostanze protoplasmatiche non granulose leggermente in bleu (1).

Colorazione azzurra secondo Giemsa. — Nelle soluzioni vecchie di bleu di metilene avviene una modificazione del bleu di metilene in azzurro di metilene. Questo ultimo ha proprietà diverse da quello e si è dimostrato ottimo specialmente per lo studio dei parassiti del sangue.

La soluzione di Giemsa, da alcuni anni largamente usata, contiene azzurro di metilene, eosina e bleu di metilene in una soluzione di alcool metilico e glicerina. La sua preparazione non è facile; oggi in Italia alcuni Istituti la preparano e la mettono in commercio, sostituendo bene il prodotto tedesco.

Il preparato di sangue viene fissato in alcool assoluto o in alcool etere. La sostanza colorante va sempre diluita subito prima dell'uso: 2 goccie per 1 c.c. di acqua distillata. Durata della colorazione: 20-30 minuti, indi lavare in acqua distillata, essicare, ecc.; oppure diluire 1 goccia in 1 c.c. di acqua distillata e durare la colorazione per 12-24 ore.

Per la colorazione degli spirilli la soluzione colorante deve essere resa alcalina coll'aggiunta di alcune goccie di una soluzione all'1 % di carbonato di potassio.

Con questo metodo le sostanze cromatiniche degli elementi cellulari e i parassiti sono colorati in rosso e rispettivamente in rosso turchino; il protoplasma dei parassiti è colorato in

---

(1) La soluzione colorante si prepara, secondo Jenner, mescolando parti uguali di una soluzione acquosa all'1,25 % di eosina con una soluzione acquosa all'1 % di bleu di metilene medicinale e lasciando stare la mescolanza all'aria aperta per 24 ore. Il precipitato che si forma di eosinato di bleu di metilene, viene raccolto su di un filtro, viene lavato con acqua distillata ed asciugato; gr. 0.5 della sostanza vengono sciolti in 100 c.c. di alcool metilico assoluto.

Secondo May-Gruenwald, vengono mescolate, a parti uguali, soluzioni all'1 per mille delle suddette sostanze coloranti; esse vengono lasciate per alcuni giorni e poi vengono raccolte e disciolte nel modo sopraindicato.

bleu, i granuli delle mast-cellule del pari. Il metodo è meno raccomandabile di quello del triacido di Ehrlich e di Jenner-May-Grünevald per far risaltare le granulazioni basofile.

Bleu policromo di Unna. — È una soluzione di bleu di metilene, di azur di metilene, sotto forma di carbonato, e di violetto di metilene, che si ottiene facendo evaporare a bagnomaria, fino alla riduzione del volume a 100 c.c., della soluzione seguente:

Bleu di metilene puro .	gr.	1
Carbonato di potassio .	»	1
Alcool a 90° . . .	cc.^{3}	20
Acqua distillata . . .	»	100

Il bleu policromo viene diluito al momento dell'uso in una uguale quantità d'acqua. Questa miscela vien fatta agire due minuti sul preparato di sangue; indi si lava accuratamente all'acqua; poi si decolora all'alcool assoluto, ciò che permette di ottenere una elettività più grande della materia colorante. Infine, volendo, si può differenziare con una soluzione di eosina.

Metodo panottico di Pappenheim. — Questo metodo è basato sull'impiego successivo della soluzione di May-Grünwald e quella di Giemsa. In primo tempo si fa agire la prima soluzione per tre minuti, durante i quali si compie contemporaneamente colorazione e fissaggio. Si lasciano quindi cadere sul vetrino alcune goccie di acqua distillata, agitando in modo che essa si mescoli colla soluzione colorante rimasta dopo aver gettato via l'eccesso; si lascia agire per altri 3-4 minuti, fino a che non compaia una colorazione rosa. Si versa via la soluzione di May-Grünewald, si colora per 4-5 minuti con la soluzione di Giemsa (3 goccie su 2-3 c.c. di acqua distillata). Si sciacqua in acqua distillata, si essica e si osserva. Il metodo dà delle colorazioni molto buone per i nuclei e per i granuli.

Mescolanza pancroma di Pappenheim. — Pappenheim ha combinato questa miscela in maniera di giungere a colorare il più gran numero possibile di elementi differenti, con tonalità particolari, corrispondenti a tutte le reazioni citologiche attualmente conosciute: basofilia, acidofilia, neutrofilia, metacromasia basofila e neutrofila.

Ciò che manca alle soluzioni di Giemsa, Leishman ecc. è la facoltà di colorare metacromaticamente gli elementi basofili, quali il protoplasma dei protozoari e le varie granulazioni.

Perciò Pappenheim ha voluto comporre una miscela tipo Giemsa (alcool metilico-glicerina) riunendo da una parte il bleu di metilene, l'azzurro di metilene e l'eosina ed inoltre, il bleu di toluidina e il violetto di metilene. Il tutto è sciolto in una miscela d'alcool metilico, d'acetone e di glicerina (1). Il vantaggio del bleu di toluidina è di permettere una colorazione più intensa degli elementi acidofili, perchè l'eosinato di bleu di toluidina è molto più facile a sciogliersi che gli eosinati di bleu di metilene e di azzurro. Il vantaggio del violetto di metilene è di colorare metacromaticamente i cromotropi basofili.

Per la colorazione dei preparati si fissa e si colora in primo tempo colla soluzione May-Grünwald nel modo identico indicato per il precedente metodo. Gettata la miscela acqua distillata May-Grünwald senza lavare, si versa sugli strisci una miscela di 15 goccie di miscela pancroma per 10 c. c. di acqua distillata. Si lascia agire almeno cinque minuti. Per i protozoari è preferibile colorare almeno 20 minuti alla stufa a 37°, in scatola Petri chiusa, per impedire l'evaporazione.

Dopo aver lavato, talvolta occorre differenziare col seguente miscuglio:

Alcool metilico . .	gr.	75
Acetone	»	25

Se però questo è troppo attivo, si può differenziare semplicemente con abbondanti lavaggi in acqua ordinaria o acqua distillata.

---

(1) Ecco la formula della miscela pancroma:

Bleu di metilene	gr.	1
» di toluidina	»	0,5
Azzurro I	»	1
Violetto di metilene	»	0,5
Eosina	»	0,75
Alcool metilico	»	250
Glicerina	»	200
Acetone	»	50

Questo procedimento permette di colorare gli strisci molto vecchi e non dà mai precipitati.

Miscela tricroma di Croveri. — Fu ideata per sostituire il Giemsa originale, resosi di difficile acquisto in seguito alla guerra e risponde bene allo scopo.

Si preparano le seguenti soluzioni madri:

1° Bleu di Manson:

Acqua distillata bollente . .	cmc.	100
Borato di sodio	gr.	5
Bleu di metilene ch. puro . .	»	2

E' bene far bollire l'acqua a bagno-maria. Quando bolle aggiungasi il borato di sodio che si scioglie molto facilmente. Indi il bleu di metilene. Si agita con una bacchetta di vetro e si tiene a bagno maria fino a che, agitando il liquido nella bottiglia, esso non lasci sul vetro delle pareti un riflesso rosso-violaceo. Dopo si ritira, si lascia raffreddare, si filtra e la soluzione è pronta.

2° Soluzione madre di bleu di metilene:

Alcool metilico glicerinato al 10 °/₀	cmc.	100
Bleu di metilene ch.te puro . .	gr.	1

3° Soluzione madre di eosina:

Alcool metilico glicerinato al 10 °/₀	cmc.	100
Eosina purissima	gr.	0,50

Queste soluzioni si conservano per lunghissimo tempo.

Per l'uso si prepara la seguente miscela:

Alcool metilico glicerinato al 10°/₀	cmc.	100
Eosina soluz. alcool 0,50 °/₀ . .	»	17,50
Bleu di metilene 1 °/₀ . . .	»	12,50
Bleu di Manson	»	16,25

La soluzione conserva le sue proprietà coloranti per lungo tempo. Tenendo del resto pronte le soluzioni madri si può rinnovare la miscela quando si vuole.

La colorazione si fa nel seguente modo:

1° Sul vetrino essicato ma non fissato si lasciano cadere delle goccie di liquido sufficienti a coprirlo. Si lascia

agire il colorante per 5 minuti. E' bene coprire il preparato per impedire l'evaporazione del liquido;

2° Si aggiunge dell'acqua distillata nella proporzione di 4 a 5 volte la quantità di miscela adoperata. Si lascia agire da 10 a 30 minuti. Per le prime volte sarà bene controllare al microscopio la rapidità di colorazione della cromatina.

E' necessario che l' acqua distillata sia perfettamente neutra. Sarà bene perciò di controllare cogli opportuni reagenti la sua neutralità o meglio usare dell'acqua ridistillata previa aggiunta di carbonato di argento in proporzione del 0,05 per 1000. Il carbonato d'argento si prepara facendo agire su una soluzione di nitrato d'argento 10 °/₀ una di carbonato di sodio al 20 °/₀ fino a cessazione del precipitato. Si raccoglie quest'ultimo, si lava parecchie volte nell'acqua distillata e si ha pronto il carbonato d'argento per la ridistillazione dell'acqua.

La miscela tricroma può anche servire per colorazioni lente in vaschetta Si fissano allora i preparati con uno dei soliti fissatori (alcool metilico per 3': alcool assoluto-etere per 5'; alcool assoluto per 10') e poi si pongono in vaschetta verticalmente in una diluizione di una goccia di liquido per cmc. di acqua distillata. Si lasciano 12 ore.

Miscuglio neutrale di verde metile, pironina e orange G. — Il Grosso, del quale abbiamo sperimentato e raccomandiamo le soluzioni di eogiemsa, di May-Grümwald, di polieosinati, da lui preparate dopo lo scoppio della guerra e che sostituiscono benissimo quelle di origine tedesca, usa questo miscuglio per la colorazione di sezioni d'organi e di strisci di sangue.

La miscela è così composta:

verde di metile sol. acq. sat. .	c.c.	3,20
pironina	»	6 —
orange G.	»	1 —
acqua distillata	»	75 —

filtrare dopo 24 ore. Si colora per 5'-10', dopo aver fissato al calore o all'alcool-formolo. Si ottiene una bella colorazione differenziale, ove manca solamente la rappresentazione, delle granulazioni neutrofile.

Tecnica per le colorazioni vitali.

La cosidetta *colorazione vitale* trova la sua utile indicazione per la dimostrazione di alcune particolarità o modificazioni del protoplasma cellulare, dei globuli sanguigni, e per la messa in evidenza di certi parassiti. La denominazione non è precisamente esatta, perchè gli elementi sono generalmente uccisi dai reattivi, pur tuttavia essa è conservata per alcuni risultati che fornisce, diversi da quelli che sono dati dagli altri metodi di colorazione.

Accenniamo soltanto ai metodi principali:

a) Israel e Pappenheim mettono direttamente a contatto di una goccia di sangue piccoli granelli di rosso neutro, che sciogliendosi colorano elettivamente la sostanza granulomatosa dei globuli rossi e in parte le granulazioni basofile;

b) Preparata una soluzione concentrata di sostanza colorante se ne striscia una goccia sul vetrino porta-oggetti e poi si essica (Pappenheim) oppure sul vetrino riscaldato la goccia di soluzione, con una bacchetta di vetro, è rapidamente strisciata (Cesaris-Demel) oppure il vetrino è riscaldato ad un punto tale, che la goccia si stende spontaneamente in modo uniforme e circolare in un sottile strato (Ferrata usa vetrini portaoggetti; Viglioli usa dei coprioggetti).

I vetrini così preparati possono essere conservati per del tempo al riparo della polvere.

Al momento dell'uso vi si deposita una goccia di sangue, che si ricopre con un vetrino coprioggetti abbastanza largo perchè il sangue non debordi.

I migliori reattivi coloranti sono il bleu di crésyl brillante e l'azur II per lo studio degli eritrociti; il bleu di metilene e di toluidina, il violetto di metile, la pironina, il rosso neutro per i leucociti, il Sudan III per le granulazioni grassose. E' bene fare uso di soluzioni diluite che danneggiano assai meno le cellule del sangue.

Schilling-Torgau preparano un vetrino porta-oggetti con bleu di crésyl brillante, nel modo sopradescritto, vi sten-

dono poi la goccia di sangue, che lasciano lentamente essicare in una scatola Petri chiusa, quindi fissano per 3 minuti all'alcool metilico e colorano col metodo di Giemsa.

c) *Metodo di Sabrazès.* — Eccellente e molto semplice. Si fa uno striscio di sangue, si secca e si ricopre con un copri-oggetti carico di una goccia di bleu di metilene all'1 p. 500. Colora molto bene i batteri, eccetto gli acido-resistenti, e i protozoari, le granulazioni e il reticolo di certe emazie, i leucociti ecc.;

d) Il metodo di colorazione di Ross risponde pure assai bene per lo studio di tutti i parassiti del sangue. Tecnica:

1° Far bollire assieme:

Sol. acq. di agar al 2 °/₀ bollita e filtrata .	cm³	3
Bleu policromo di Unna diluito al terzo .	»	1
Citrato di sodio . . gr. 4,5 Cloruro di sodio . . » 1,5 Solfato di atropina . . » 0,225 Acqua distillata . . cm³ 100 — di questa soluzione	»	2

dopo ebullizione, aggiungere:

Soluz. acqua di bicarbonato di sodio al 5 °/₀	»	0,30

2° Depositare sopra un vetrino una goccia di questa mescolanza, stenderla e raffreddare in ghiaccio;

3° Strisciare una goccia di sangue e riporla sul ghiaccio;

4° Dopo 5 minuti esaminare:

e) *Metodo di Cesaris-Demel per la ricerca delle granulazioni grassose.* Preparare le due soluzioni:

Soluz. *A*	Sudan III . . .	gr.	0,04
	Alcool assoluto . .	»	10
Soluz. *B*	Brillankresylblau . .	»	0,02
	Alcool assoluto . .	»	10

Una goccia della miscela a parti uguali di queste due soluzioni è stesa e lasciata essicare sul vetrino, poi una goccia di sangue vi è posta e ricoperta con coprioggetti. Micheli si servì di questo metodo per la diagnosi differenziale nell'uomo fra la meningite purulenta (50-80 p. 100 di leucociti sudanofili) e la meningite tubercolare (nessun leucocito sudanofilo).

f) Metodo al rosso neutro d'Achard e Ramond per ricercare la vitalità dei leucociti (nei leucociti morti il nucleo si colora in rosso-bruno). Si versano in un tubo da centrifuga 10 goccie di rossoneutro all'1 p. 1000 in soluzione fisiologica e 15 goccie d'acqua salata citratata al 6 p. 1000. In questa miscela si fa cadere una goccia o di sangue o di deposito centrifugato di sierosità o di liquido cefalo-rachidiano. Si porta 20' a 37° poi si esamina in camera umida. Occorre operare rapidamente (5 minuti), perchè i leucociti non abbiano il tempo da morire.

g) Ricerca dei leucociti a granulazioni iodofile. — Questa reazione concerne solamente i leucociti a nuclei polimorfi ed anche le piastrine.

Secondo Ehrlich, dei preparati a striscio di sangue, su vetrini lasciati asciugare all'aria, vengono inclusi per mezzo di una soluzione di iodio e gomma (Iodio puro 1, ioduro di potassio 3, acqua distillata 100, gomma arabica fino a consistenza sciropposa), oppure i preparati asciugati all'aria vengono introdotti in una piccola cassetta, ove si sprigionano dei vapori di iodio, provenienti da alcuni cristalli di iodio e vengono poi inclusi in levulosio (1). Si vedono allora specialmente nei processi suppurativi, i leucociti e delle volte anche le piastrine, che presentano una colorazione diffusa bruna, oppure dei granuli e dei globuli bruni, che rappresentano il glicogene.

Una volta compiuta la colorazione vitale i preparati possono essere resi stabili e subire un secondo processo di colorazione (Cesaris-Demel, Pappenheim, Biondi, Sabrazés, Ferrata e Vignoli).

Non ci intratteniamo a parlare della colorazione intravitam, iniettando in vivo delle sostanze coloranti allo scopo di mettere in evidenza alcune particolarità cellulari, perchè una tale tecnica non può avere applicazione di fronte alle esigenze cliniche, mentre dà risultati ottimi specialmente nello studio dei tessuti emopoietici.

---

(1) Michaelis consiglia di preparare il sciroppo di levulosio nel modo seguente: mescolare levulosio con un po' meno d'acqua del suo volume, e lasciare 24 ore alla stufa, in maniera di ottenere un liquido denso.

Misurazione degli elementi figurati del sangue.

La misurazione degli elementi figurati del sangue non ha molta importanza nè dal punto di vista clinico nè da quello ematologico.

Un occhio ben esercitato apprezza facilmente il diametro delle emazie nei preparati a secco e per lo più un rapido esame è sufficiente per stabilire le eventuali, importanti modificazioni.

La misurazione esatta dei globuli è fatta a mezzo dì un oculare micrometrico e di un obbiettivo a secco.

Il Malassez ha proposto un metodo, che consiste nel disegnare colla camera chiara, a un ingrandimento di 1000 diametri, da un buon preparato secco non colorato, un centinaio di globuli e stabilire in seguito il diametro dei disegni eseguiti a mezzo di un'asta calibrata.

Del resto qualunque metodo si usi esso non può avere che un valore relativo, difatti se si eseguisce uno striscio con uno strato sottile di sangue, per la rapida evaporazione e conseguente essicamento il diametro dei globuli è più largo che non se lo strato è più spesso, dove allora l'evaporazione è più lenta ed i globuli prima di essicare completamente si retraggono e palesano perciò un diametro minore.

Determinazione microscopica del contenuto di fibrina del sangue.

All'esame microscopico a fresco del sangue è possibile farsi un concetto approssimativo del contenuto in fibrina e sulla tendenza di essa a separarsi. Può servire un preparato eseguito nel modo da noi indicato, ma è meglio procedere nel seguente modo: si incide la mucosa o la pelle in modo di ottenere una grossa goccia, nella quale si pesca con una pipetta o su essa si posa dolcemente il centro del vetrino portaoggetti. Ricoprire molto delicatamente con un coprioggetti e racchiudere i margini con paraffina o vaselina, senza spostare il coprioggetti. Esaminare a 500 diametri il reticolo

fibrinoso che si forma nelle lacune che si formano fra le cosìdette pile di monete dei globuli rossi, dopo aver lasciato il preparato a sè per un quarto d'ora, mezz'ora. Normalmente il reticolo fibrinoso è quasi invisibile, mentre invece nelle malattie infiammatorie e specialmente nella polmonite è così abbondante, che gli spazii fra i rotoli di monete dei corpuscoli rossi sono completamente riempiti da una fittissima rete di fibrina.

L'ultramicroscopio in ematologia.

In medicina umana l'impiego dell'ultramicroscopio è stato applicato allo studio dell'ematologia, rispondendo efficacemente a certe indicazioni. Esso trova la sua indicazione nella ricerca di parassiti sanguigni, che pur visibili agli ingrandimenti microscopici, per la loro rifrangenza si confondono e sono di difficile individualizzazione nel mezzo ambiente; invece nel fondo nero del microscopio spirilli tripanosomi e batteri appaiono bianchi e risaltano facilmente evidenti.

Inoltre l'ultramicroscopia è stata sfruttata per penetrare più a fondo nella conoscenza degli elementi figurati del sangue,

Sarebbe forse prematuro, affermano Aynaud e Jeantet, insistere oggi sulle applicazioni dell'ultramicroscopio nella clinica, ad ogni modo anche l'uso di esso potrà forse entrare un giorno con certi vantaggi fra le varie indagini diagnostiche.

PARTE QUINTA
Elementi figurati del sangue

GLOBULI ROSSI

Morfologia dei globuli rossi normali. Il loro numero fisiologico.

I *globuli rossi* o *eritrociti* o *emazie* si formano nel midollo osseo e derivano dagli *eritroblasti*, elementi nucleati che stanno a rappresentare uno stadio anteriore agli eritrociti. Gli eritroblasti negli stati post-embrionali raggiungono su per giù la grandezza dei globuli rossi e vengono chiamati *normoblasti*. Nello stato embrionale ed in certe condizioni patologiche essi si distinguono per la speciale grandezza del nucleo e del protoplasma e si chiamano perciò *megaloblasti*. Dai normoblasti e dai megaloblasti si formano, per disfacimento o per raggrinzamento e fuoriuscita del nucleo dei *normociti* oppure dei *megalociti*, detti anche *macrociti*, che sono tutti sprovvisti di nucleo.

Gli eritrociti normali o normociti sono costituiti da uno stroma che contiene l'emoglobina. In condizione fisiologica essi si presentano sotto forma di dischi circolari senza nucleo, omogenei leggermente biconcavi. Gli eritrociti normali hanno la tendenza di disporsi in pila, costituendo i cosidetti rotoli di monete. Nel cavallo hanno dei diametri che variano fra μ 4,52 e μ 7,83, il diametro medio è di μ 5,63 inferiore a quello delle emazie umane, lo spessore è di circa due μ. Nel bue le dimensioni normali dei globuli rossi hanno in media 5 μ 2 di diametro. Quello invece delle emazie piccole è di 4 μ 1 delle grosse 6 μ 6.

Secondo Durroux, le emazie del cavallo avrebbero una membrana cellulare più spessa di quelle dell'uomo.

Le emazie tendono per lo più a disporsi a pile di nonete, ma quando il preparato sia stato disteso, si presentano isolate. Il loro colorito è rosso chiaro, dovuto all'emoglobina che contengono: l'ombellicatura corrispondente alla parte centrale quando sono di piatto, intravvista fra i due poli quando sono di profilo, o non è colorata o lo è appena. Nei preparati a fresco, si vedono, dopo poco tempo, in conseguenza dell'evaporazione della parte acquosa, dei fenomeni di raggrinzamento, che invadono la periferia degli eritrociti, i quali assumono allora la forma di pomi spinosi, di more o stellata. Una piccola pressione è capace di deformare fortemente i globuli e si possono scorgere allora dei contorni irregolari e dei fenomeni di distacchi globulari.

Gli eritrociti si distinguono colla colorazione per la spiccata acidofilia: essi assorbono avidamente le sostanze coloranti acide, come p. e. l'eosina, nel qual caso le loro parti periferiche che contengono l'emoglobina, si colorano più fortemente.

Il numero normale dei globuli rossi è, secondo i trattati di semeiotica di Aruch e Marcone:

nel cavallo	7.500.000	p. mm^3
» bue	6.500.000	» »

I sottoriferiti autori così stabiliscono il numero delle emazie normali nella specie equina e bovina:

Nel cavallo.

		MEDIA	ESTREMI
Ellemberger-Scheunert . .		8.000.000	6 - 10.000.000
Friedberger-Fröhner . . .		8.000.000	
Malkmus		8.050.000	
Storch	nello stallone .	8.205.000	
»	nel castrato . .	7.595.000	
»	nella cavalla .	7.119.000	
»	nel puledro . .	9.390.000	
Gasse	nello stallone .	9.400.000	8.200.000 - 10.200.000
»	nel castrato . .	8.300.000	7.400.000 - 9.100.000

		MEDIA	ESTREMI
Gasse	nella cavalla. .	6.500.000	5.200.000 - 7.400.000
Wiendieck	nello stallone .	8.029.000	7 - 10.000.000
»	nel castrato . .	7.100.000	6.500.000 - 7.500.000
»	nella cavalla . .	6.874.000	6 - 7.000.000
Franke		9.000.000	6.500.000 - 9.500.000
Hayem		7.403.000	
Lussdorf	nello stallone .	8.000.000	6.500.000 - 8.500
»	nel castrato . .	7.780.000	
»	nella cavalla . .	6.650.000	
Meier.		7.950.000	
Marek		8.000.000	7 - 9.000.000
Sabrazés, Muratet e Durroux			
	nel castrato	8.008.335	
	nella cavalla	6.675.335	
Durroux	nel cavallo . . .	8.752.132	
»	nella cavalla . .	8.352.443	

Dalle surriferite cifre dei varii autori si possono dedurre le seguenti medie:

per lo stallone	8.440.000
per il cavallo castrato .	7.690.000
per la cavalla	6.790.000

Nel bovino:

Storch	nel toro	6.500.000	
»	nel bue	6.700.000	
»	nella vacca	5.500.000	
»	nel vitello	8.500.000	
Kitt		6.600.000	5 - 7.000.000
Muktesar		7.200.000	9.160.000 - 5.630.000

Nei conteggi che noi abbiamo eseguiti tanto per il cavallo che per il bue sani abbiano ottenuto risultati che si avvicinano molto a quelli dei surriferiti autori.

Dalle surriferite cifre si deduce, che le differenze constatate negli uomini riguardo al sesso, esistono anche nel cavallo e nel bue, che inoltre la castrazione non è senza influenza sul numero delle emazie.

Riguardo all'età Storch afferma che tanto il puledro che il vitello hanno sempre un numero superiore di emazie che non gli animali adulti e che il numero dei globuli rossi decresce progressivamente coll'età, in un cavallo di 20 anni sano trovò solo 5.660.000. In questo senso il sangue del cavallo e del bovino si differenzia da quello delle pecore, porci e capre, giacchè queste specie animali hanno in gioventù un numero di emazie inferiore a quello della maturità. Le osservazioni di Storch per i bovini sono confermate da Utendorfer.

Cohnstein, Kruger e Jung hanno dimostrato che il sangue arterioso e il sangue venoso del cavallo, non presensentano differenze nella loro ricchezza in corpuscoli rossi. Reinert, che ha pure studiata questa questione, afferma che il posto, in cui si prende il sangue da esaminare, ha un' influenza molto piccola sull'esattezza dei risultati, per quanto concerne il numero degli eritrociti. Secondo tale autore difatti le variazioni di numero degli eritrociti, contenuti in un millimetro cubico di sangue, preso in otto differenti posti del corpo alla medesima ora sono in media di 1,89 °/₀.

La morfologia degli eritrociti non varia nelle diverse età dell'animale.

Il Durroux afferma che il puledro neonato presenta nel suo sangue, come la più parte degli altri mammiferi, alla loro nascita e per breve tempo dopo, dei globuli rossi in numero di una diecina soltanto per preparato, che posseggono un corpuscolo basofilo, colorabile allo stato vitale e dopo fissazione coll'alcool. Questo corpuscolo rappresenta ciò che Jolly ha descritto sotto il nome di « resto nucleare » nelle altre specie animali.

All'opposto di un gran numero di altri mammiferi, il sangue del puledro non mostra emazie granulo-filamentose. Durroux non osservò policromatofilia neppure nelle altre età del cavallo.

Il Roncaglio in bovini adulti e negli equini di tutte le età non osservò mai il reperto degli eritrociti granulo-filamentosi in circolo, sia nelle condizioni normali che in parecchie condizioni patologiche specialmente anemizzanti, mentre invece nei bovini, oltre che nella vita embrionale, anche nei

primi tempi della vita extra-uterina esistono nel sangue circolante emazie granulo-filamentose, che però scompaiono presto senza ripresentarsi nella vita adulta, anche in questa specie, neppure in quelle forme morbose, che nell'uomo, ad esempio, sono ritenute le più favorevoli per la rapida comparsa in circolo di numerose di tali emazie.

Il puledro, come il cavallo adulto allo stato normale e patologico non mostra mai emazie nucleate nel sangue circolante.

Secondo Yakimoff e Kolh il puro sangue ha un contenuto di emazie superiore a quello dei cavalli di altre razze.

L'esame del sangue di un puledro, fatto sistematicamente tutti i giorni, dal primo della nascita fino al mese di età e poi di otto in otto giorni fino ai tre mesi, non ci permise mai di osservare, emazie nucleate ed emazie granulofilamentose, che non rintracciammo neppure in un'altro puledro, i cui esami dovettero però esser fatti a giorni distanziati. Tali reperti non furono constatati neppure nel sangue di uno stallone, di cavalle e di cavalli castrati.

Nei vitelli, di pochi giorni, fino ai due mesi di età non riscontrammo mai emazie nucleate e salvo rari eritrociti granulo-filamentosi che scompaiono però totalmente nelle età più avanzate.

Emazie con resti nucleari, in percentuale però assai bassa, le rinvenimmo tanto nel sangue dei puledri, quanto in quello dei vitelli e nei secondi in proporzione lievemente più sensibile, soltanto però nei primi giorni di vita. Scompaiono presto e non si rendono più evidenti nel sangue di cavalli e bovini adulti.

L'esame del sangue fresco è di speciale importanza per lo studio dei globuli rossi. Le differenze più grossolane nel loro numero si possono riconoscere senz'altro dalla posizione dei singoli globuli, dalla deficiente oppure mancante disposizione a rotoli di monete. Nel preparato a fresco si possono inoltre riconoscere le modificazioni nella grandezza e nella forma dei globuli, si può vedere se la sostanza colorante è aumentata o diminuita.

Le colorazioni vitali dànno nello studio della morfologia degli eritrociti importanti ragguagli.

Alterazioni morfologiche dei globuli rossi.

Nelle condizioni patologiche a carico dei globuli rossi si possono osservare variazioni in rapporto alla grandezza, alla forma, al colore e colorabilità, al número e alla permanenza del nucleo.

Variazioni della grandezza. — In tutte le forme di anemia, ma specialmente nelle anemie gravi, ed in particolar modo nella anemia perniciosa del cavallo, nelle babebiosi, nelle tripanosomiasi, ecc., si osservano alterazioni nella grandezza degli eritrociti *(anisocitosi).* Se ne osservano di anormalmente grossi *(globuli giganti* o *macrociti)* e di anormalmente piccoli *(microciti).* Da questi ultimi bisogna distinguere quei corpuscoli globosi che provengono dalla frammentazione del protoplasma degli eritrociti e che si possono vedere muovere vivacemente nei preparati a fresco e possono essere scambiati con parassiti.

Tanto i macro che i microciti possono essere considerati come prodotti di degenerazione.

I *macrociti* forme grandi, compatte, ricche di emoglobina e perciò ben colorabili, vanno distinte dalle forme rigonfie dovute ad assorbimento d'acqua.

Alterazioni di forma. — Queste alterazioni, si accompagnano nel maggior numero dei casi coll'anisocitosi. Invece della forma rotonda normale i globuli si presentano irregolari spesso provvisti di propaggini che dànno loro forme varie: di clava, di pera, di biscotto, di uovo, di fuso, di semiluna, di corno, di martello, di manubrio, ecc. Questi cambiamenti si designano col nome di *poichilocitosi* ed hanno speciale significato patologico. Va ricordato al contrario che le forme alterate che si osservano nei preparati male allestiti (strato troppo spesso, disseccamento, umidità) debbono essere considerate, generalmente, come prodotti artificiali.

La poichilocitosi si diagnostica ed è più esattamente interpretata nei preparati non colorati.

Modificazioni nel colore e nella colorabilità. — Ricorderemo dapprima i casi di notevole diminuzione del contenuto emo-

globinico dei globuli rossi per cui, già all'esame microscopico del preparato a fresco, essi appaiono pallidi o gialli. Il fenomeno deriva da scarsezza di emoglobina o da una sproporzione fra la diluizione dell'emoglobina e i globuli rossi, dovuta o a un rigonfiamento degli eritrociti, prodotto da un maggiore assorbimento d'acqua, oppure esso è la conseguenza della produzione di forme cellulari insufficientemente mature: talvolta essa è dovuta all'azione di veleni emolitici, che provocano un'emoglobinemia, cioè una fuoruscita di emoglobina nel plasma sanguigno.

Una colorazione molto intensa, rosso scuro, è un sintomo frequente nell'anemia perniciosa, perchè i veri macrociti o megalociti presentano una colorazione anormalmente intensa ed una intensa colorabilità. Difatti nei preparati a fresco spicca subito il loro colore più scuro e la piccolezza dell'ombellicatura; nei preparati colorati si constata la colorazione più intensa. Anche i microciti presentano spesso un'intensa colorabilità.

La diversa quantità di emoglobina contenuta nei globuli in seguito a condizioni patologiche può essere determinata facendo il calcolo dell'indice di colorazione (confr. pag. 141).

Siccome si chiamano ortocromatici i globuli rossi che hanno colorazione normale, si chiama *oligocromenia* quando sono meno colorati.

Alle anomalie della colorabilità appartiene la *policromasia* o *policromatofilia*, riconoscibile solo nei preparati colorati. I corpuscoli rossi assumono allora non solo la tinta della sostanza colorante acida, ma anche quella dei componenti alcalini della soluzione colorante. Questa particolarità si osserva normalmente nel sangue embrionale, nei periodi ulteriori viene considerata come un segno di ematopoiesi anormale.

Si possono osservare dei globuli che sono colorati soltanto in una zona ristretta, tutt'attorno al bordo, le cosidette forme a pessario, oppure che hanno una colorazione appena apprezzabile come un'ombra, le cosidette *ombre di sangue*. Alcuni contengono, oltre alla zona di plasma colorato, anche una macchia colorata centrale, oppure presentano una colorazione non uniforme, dovuta alla disuguale distribuzione dell'emoglobina. Da Ehrlich vennero descritti dei globuli con un corpuscolo centrale, rotondo e colorato, cioè il corpo in-

teriore emoglobinemico, che egli ha riscontrato nelle gravi anemie emotossiche e che vennero da lui considerate come degenerazioni emoglobinemiche.

Corpi basofili, possono riscontrarsi negli eritrociti e sono rappresentati da granuli o bastoncini finissimi o anelli, colorati intensamente in bleu e si osservano sia in emazie colorate normalmente o policromatiche (*corpi di Jolly, corpi anulari di Cabot, granulazioni azzurrofile di Naegeli, policromatofilia azzurrofila di Ferrata e Vignoli*).

Queste alterazioni si riscontrano nelle anemie, specialmente nelle forme più gravi ed anche negli avvelenamenti cronici da piombo.

Abbiamo già detto che il Roncaglio non ebbe a rinvenire emazie granulo-filamentose, nè nel sangue sano, nè in quello patologico di cavalli e bovini adulti, per cui afferma che non si può applicare a questi animali la legge per la quale, negli stati anemici, comparirebbe nel sangue il reperto di tali emazie. Altri autori (Cagnetto, Rieder, Foà, Cesaris-Demel, Strauss, Moritz) invece affermano che nel sangue circolante di tutti i mammiferi adulti si presentano e sono in lieve proporzione dette emazie, mentre si rendono evidenti nelle condizioni patologiche della più svariata natura.

Secondo Joest e Jähnichen nel cavallo sano si riscontrerebbero rarissime emazie con corpi del Jolly, le quali aumenterebbero invece nell'osteomalacia del cavallo.

Ad ogni modo di policromatofilia, ombre di sangue, corpi basofili ed altre particolarità che abbiamo ora menzionate, se finora sono pochi gli accenni elencati in medicina veterinaria (Hutyra e Marek) abbiamo però voluto brevemente ricordarle, perchè ricerche più profonde, nelle anemie, nelle malattie del sangue a protozoi, ecc., in modo speciale, potrebbero metterle in evidenza con maggiore casistica e con più ampia illustrazione.

Modificazione del numero. — Abbiamo visto più sopra quale è il numero normale dei globuli rossi sia nella specie equina, che nella specie bovina. Il quoziente fisiologico delle emazie può subire notevoli variazioni patologiche. La diminuzione, *l'oligocitemia*, che si riscontra negli stati anemici e può raggiungere delle cifre molto basse (Charron ha visto in diversi

casi di anemia perniciosa l'ipoglobulia scendere a 1.800.000), si riconosce per la mancanza della disposizione a rotoli di monete e dalla posizione isolata dei globuli. L'oligocitoemia è la conseguenza di una deficiente formazione di nuovi globluli, oppure di perdite anormali di globuli, causate da emorragie o da disfacimento tossico.

Essa nella maggioranza dei casi, va congiunta coll'oligocromemia, e perciò i due metodi di ricerca sul numero dei globuli o sul contenuto d'emoglobina (indice emoglobinico) si completano a vicenda. Va congiunta spesso anche all'anisocitosi ed alla poichilocitosi. L'oligocitemia dunque si produce rapidamente in seguito a ripetute emorragie e in questo caso per lo più è temporanea; è permanente in tutte le affezioni che conducono ad una difettosa rigenerazione del sangue, come sono gli stati anemici cronici, idiopatici o secondarii a malattie parassitarie del sangue, ad alimentazione insufficiente, a lavoro esagerato, a difetto di luce, ad infiammazioni croniche, a neoplasie maligne, ad intossicazioni, a parassiti dell'intestino (tenie), del fegato (echinococchi, distomi) e dei polmoni (strongilosi polmonare), [Marcone], nelle malattie a decorso cronico: tubercolosi, morva, ecc., nelle malattie infine degli organi emopoitici.

Aumenti veri, genuini degli eritrociti sono assai rari; si potrebbero osservare in una serie di condizioni morbose le quali presentano come fatto comune un ostacolo alla respirazione interna, allo scambio gassoso nei tessuti. Così può essere, ad es., nei vizii congeniti di cuore e in altri stati di dispnea cronica di varia origine. Nella medicina umana soltanto da tempi recenti si sa che c'è una malattia a sè, la *poliglobulia* o *eritremia*, nella quale esiste un aumento genuino e spesso assai notevole degli eritrociti, ma in medicina veterinaria Marcone afferma che oggi non si ammette più un aumento assoluto dei globuli rossi, come un tempo si riteneva nella pletora, ma può aversi un aumento relativo al siero, come nei casi patologici in cui l'organismo perde grande quantità di acqua (versamenti nelle cavità - poliuria - enteriti diarroiche, ecc.).

Nel tetano Favero, Ferrari, König osservarono in alcuni casi aumento delle emazie, che pure fu riscontrato talvolta nella emoglobinuria parossistica (Mac Fidyean ed altri).

Nel computo delle variazioni numeriche degli eritrociti è bene osservare che non si può sempre in base alle oscillazioni od alle differenze, dalle cifre ottenute dedurre senz'altro che il numero degli eritrociti è andato soggetto ad aumenti od a diminuzioni reali. Numerose influenze possono infatti causare un aumento o una diminuzione apparente degli eritrociti nell'unità di volume. Le forti perdite liquide causano un *ispessimento* del sangue. Le ritenzioni liquide possono causare un'idremia, ossia un edema del sangue. Tutto ciò deve naturalmente accompagnarsi a modificazioni nel numero degli eritrociti nell'unità di volume, senza che esistano un aumento o una diminuzione reali. Ciò devesi tenere presente per non formulare diagnosi errate in base al reperto del sangue.

Altre influenze, da considerare, sono quelle dirette sui vasomotori che modificano il numero dei globuli rossi in un territorio vasale limitato, ossia soltanto localmente. Così dicasi delle influenze termiche di varia natura e delle dilatazioni e restringimenti dei vasi da altra causa provocati. Queste condizioni non sono naturalmente nè anemie, nè eritremie.

Globuli rossi nucleati. — Essi si osservano (eritoblasti, megaloblasti) normalmente nel midollo osseo come forme primordiali dei globuli rossi.

Nell'uomo simile reperto è stato constatato più raramente. Anche per il cavallo e il bue, negli stati anemici (piroplasmosi, tripanosomiasi, anemia infettiva, ecc.) con aumentata funzione ematopoietica, queste forme possono passare in circolo, ciò che di regola fanno solo gli *eritroblasti* (detti anche *normoblasti*, perchè per grandezza non diversi dai globuli rossi e normali), nei casi gravi però anche i *megaloblasti.*

I normoblasti hanno protoplasma orto o policromatico, talvolta con punteggiature basofile, il nucleo è intensamente colorabile ed ha aspetto alveolare, o raggiato, o raggrinzito, o suddiviso in più parti.

I megaloblasti assai più grandi, hanno nucleo alveolare debolmente colorato e protoplasma policromatico omogeneo oppure finemente punteggiato. I megaloblasti sono assieme ai macrociti una delle maggiori caratteristiche delle anemie perniciose dell'uomo, nel cavallo e nel bue finora furono riscontrati solo rarissimamente.

Alcuni autori hanno osservato globuli rossi nucleati anche nel cavallo sano. Baldoni non li constatò mai neppure dopo abbondanti salassi.

Marcone, nel suo trattato di semeiotica accenna ancora ad altre alterazioni di natura non ben determinata, a cui vanno soggetti i globuli rossi. Questi possono difettare di resistenza, poichè non si può fare un preparato microscopico senza che perdano la forma di dischi biconcavi, e ciò si riscontra frequentemente nelle malattie infettive acute; non si può comprimere il vetrino coprioggetti senza che si spezzettino (*emocitotripsia*), o si deformino (*emocitolisi*). Talvolta si raccoglie accanto ai globuli una sostanza cristallina, come avviene nel sangue di animali resi anemici. In altri casi acquistano la proprietà di contrarsi e cacciare dei prolungamenti come i leucociti. Infine alle volte aumenta la loro *viscosità* a segno da far vedere nel campo microscopico tante zone sprovviste di globuli (laghi di siero) come nel carbonchio ematico.

Questo ultimo reperto può forse entrare in quello dell'*autoemoagglutinazione*, nel quale le emazie si presentano disposte, invece che nell'aspetto normale, a gruppi separati da spazî chiari.

Questo fenomeno fu osservato ampiamente nella tripanosomiasi, e talvolta nelle piroplasmosi ed anche nella tifoanemia del cavallo e più raramente in altre malattie. Il siero di animali affetti da tripanosi è capace di riprodurre il fenomeno, se mescolato ad una soluzione di globuli rossi normali, appartenenti alla stessa specie ammalata (Laveran e Mesnil).

Il quoziente di emoglobina, o valore di emoglobina e il quoziente volumetrico o valore volumetrico dei corpuscoli rossi.

Il quantitativo di emoglobina proprio di ciascun corpuscolo rosso rispetto alla norma, veniva designato col nome di quoziente, o valore corpuscolare o indice colorante dei corpuscoli rossi. A queste vecchie denominazioni il Sahli

propone di sostituire quelle di quoziente o valore di emoglobina dei corpuscoli ad evitare confusione col quoziente di volume dei globuli stessi. Analogamente detto Autore ritiene opportuno esprimere questo, denominato prima indice volumetrico dell'eritrocito, coll'espressione quoziente volumetrico o valore volumetrico dei corpuscoli rossi. Difatti questo quoziente sta ad indicare la misura del volume medio del singolo eritrocito.

Il quoziente emoglobinico si ottiene mediante un calcolo semplicissimo. Esso risulta dal confronto fra il quantitativo di emoglobina e il numero dei globuli rossi determinati e rapportati alla norma, per cui è dato dalla seguente formula:

$$\text{Q. E.} = \frac{\text{valore emoglob. trovato}}{\text{valore emoglob. normale}} : \frac{\text{valore eritr. trovato}}{\text{valore eritr. normale}}$$

Si vede da essa che il quoziente emoglobinico è diminuito quando il contenuto in emoglobina diminuisce di più di quello che proporzionalmente diminuisce il numero dei globuli rossi; esso è invece aumentato quando il contenuto emoglobinico è aumentato rispetto al numero dei globuli rossi.

Il valore emoglobinico normale è l'unità.

Importante, dal punto di vista diagnostico, nella medicina umana, è l'aumento del valore emoglobinico che si osserva nell'anemia perniciosa, mentre nelle altre forme anemiche vi ha diminuzione.

Il quoziente volumetrico si ottiene seguendo le indicazioni suggerite da *Capps*. Egli determina mediante l'ematocrito, e proprio senza aggiunta di liquido (v. pag. 131) il volume dei corpuscoli rossi, in rapporto al volume del sangue totale. Normalmente egli ottiene così circa 40 %. Se questo numero normale viene stabilito a 1, si possono valutare in percentuale di questa cifra normale i valori trovati nei casi patologici, analogamente a quanto si pratica per il contenuto di emoglobina. Orbene, Capps numera nello stesso sangue i corpuscoli rossi ed esprime anche il numero così trovato in percentuale della norma. Divide allora il volume dei corpuscoli sanguigni per il numero dei corpuscoli, entrambi espressi

in percentuale della norma, ed ottiene così il valore volumetrico. Di norma, come è chiaro, questo quoziente è uguale a 1.

Dalle ricerche di Capps risulta che quando il valore emoglobinico è aumentato, parallelamente è aumentato anche il valore volumetrico (ad es. nell'anemia perniciosa dell'uomo) mentre invece può diminuire il primo rimanendo normale o quasi il secondo.

GLOBULI BIANCHI.

Leucociti del sangue normale.
Morfologia e classificazione.

I globuli bianchi sono facilmente differenziabili dai rossi nel preparato a fresco per la loro mancanza di emoglobina, i loro contorni un po' più irregolari e il loro protoplasma granuloso.

Diligenti studi sui globuli bianchi del sangue datano dalla scoperta della leucemia fatta da Virchow e dalle classiche ricerche di Cohnneim sulla loro importanza nell'infiammazione.

Collo studio dei preparati secchi colorati Ehrlich riconobbe che già nel sangue normale ci sono molte più specie differenti di leucociti, di quanto fino allora si avesse creduto. Egli trovò in una parte dei leucociti delle *particolari granulazioni*, le quali sono specifiche per le singole specie di leucociti, ossia un leucocito può contenere soltanto una specie di granulazioni. Corrispondentemente a ciò, e appunto secondo Ehrlich, i leucociti possono essere distinti in varie classi suddivise secondo le loro granulazioni specifiche.

Si è obbiettato per combattere la specificità delle granulazioni che alcuni leucociti possono presentare contemporaneamente granulazioni acidofile e basofile, ma fu ben dimostrato che in tali casi non si tratta di granuli differenti, bensì

a diverso grado di sviluppo; i granuli giovani hanno proprietà basofile che poi invecchiando essi, diventano acidofile.

Il secondo criterio importante, che deve essere considerato nella suddivisione è la *forma del nucleo.* Prima si dava forse eccessiva importanza alle granulazioni sole, recentemente in seguito ai lavori di Naegeli, Pappenheim, Arneth, Grawitz vanno presi in valida considerazione anche il nucleo e il protoplasma.

In terzo luogo verrebbero come base di suddivisione le varianti nella *composizione chimica* e nel valore fermentativo dei leucociti. Ma per ora se ne sa così poco, le nostre cognizioni sono talmente allo stadio iniziale, che si deve andare assai guardinghi (Morawitz).

Veniamo ora a vedere le singole specie di leucociti nel sangue normale:

Linfociti.

I linfociti ordinari del cavallo e del bue hanno gli stessi caratteri di quelli dei mammiferi in generale sono cellule piccole, raggiungenti al massimo la grandezza di un globulo rosso, (nel cavallo il diametro varia da 5μ a 15μ circa), forniti di grosso nucleo, sprovvisto di nucleolo apparente circondato da un sottile orlo protoplasmatico. Il nucleo si colora intensamente colla sostanza basica della soluzione colorante. Anche il protoplasma è basofilo ma molto più debolmente. Il nucleo è rotondo od ovale; il polimorfismo del nucleo non è spiccato. In modo particolarmente bello si colora il protoplasma dei linfociti colla pironina, secondo Pappenheim, appare rosso brillante. Una cellula che non presenta questa colorazione del plasma non può essere un linfocito.

Oltre i linfociti normali, piccoli, si osservano dei linfociti grandi, *normalmente scarsi, in condizioni patologiche numerosi.*

Le oscillazioni nel numero dei linfociti nel sangue circolante sono assai più rare di quelle degli altri leucociti. Per lo più si tratta soltanto di aumenti e diminuzioni relative, causate da modificazioni nel numero degli altri globuli bianchi. I linfociti non sono soggetti alle azioni chemotattiche nella stessa misura delle cellule granulose.

Leucociti grandi mononucleari.

Sono grandi cellule con protoplasma reticolare abbondante, privo di granulazioni e con nucleo grosso, ovale ed omogeneo. Il nucleo si colora più intensamente del protoplasma; ambedue però in modo relativamente debole. I leucociti grandi mononucleari sono un elemento del sangue normale, ma sono molto scarsi e di genesi e significato non chiari.

Le dimensioni dei grandi mononucleari del cavallo variano da 13 a 15 μ. Talvolta si trovano dei grandi mononucleari veramente giganti, in diametro misurano 26 μ. Il protoplásma di questi elementi è un po' più basofilo specialmente al margine.

I grandi mononucleari sono nel puledro in numero di 1,6-9,8 °/₀ (media 5,38). Nel cavallo adulto il loro numero è alquanto superiore. Nel bovino raggiungono fino il 25-30 °/₀ (Moussu).

Secondo Franke nel sangue normale di cavallo il numero complessivo dei mononucleari, compresivi quindi anche i linfociti, è di 4,270 per millimetro cubico, secondo Wiendieck 2,650-3,800.

Cellule di transizione e forme di passaggio.

Si distinguono dai grossi mononucleari, per la forma del nucleo, che è incavato, frastagliato, più intensamente colorabile, ma che è tuttavia tozzo e non può essere confuso con quello delle cellule polinucleate.

Ehrlich scelse il nome di forme di passaggio, perchè credeva si trattasse effettivamente di una forma di passaggio ai leucociti neutrofili a nucleo polimorfo. Oggi però la maggior parte degli ematologi non condivide più una tale interpretazione, che è sostituita da ipotesi diverse.

Sono scarsissime nel sangue normale, più frequenti in quello patologico.

Il *Durroux* in luogo di denominare forme di transizione o di passaggio i tipi di questo genere, a nucleo unico,

ma più o meno frastagliato preferisce chiamarli « grandi mononucleari a nucleo multilobato », considerandole forme ad estrema maturazione od anche espressione di invecchiamento dei grandi mononucleari.

Nel puledro sono in numero di 0-1,17 °/₀ (media 0,46) nell'adulto, di 0-1,14 (media 0,47). In animali adulti sani è facile non riuscire a metterli in evidenza.

Leucociti polinucleari o leucociti neutrofili a nucleo polimorfo.

Queste cellule che rappresentano la grande maggioranza di tutti gli elementi bianchi del sangue hanno una grandezza circa doppia di quella dei globuli rossi e sono fornite di 2-5 nuclei riuniti fra loro da piccoli punti di sostanza nucleare in modo da assumere forme di ferro di cavallo o di trifoglio. Si ammette che queste cellule siano tanto più giovani quanto è meno lobato il loro nucleo. I nuclei si colorano con una certa intensità coi colori basici e il protoplasma è leggermente ossifilo. Esso non è mai omogeneo per la presenza delle granulazioni neutrofile, che sono piccoli granellini sparsi in tutto il protoplasma, che nelle miscele delle sostanze coloranti acide e basiche assumono una tinta mista. Così, ad es., si colorano in violetto col triacido e col Giemsa, in rosa coll'Jenner-May-Grünwald. Spesso però assumono un aspetto quasi rosso, per cui potrebbero essere confuse le cellule neutrofile colle eosinofile. Se ne distinguono però perchè le granulazioni di queste sono evidentemente più grossolane.

I leucociti polinucleari, in preparati fissati e colorati hanno dimensioni che variano da 12-14 μ.

I polinucleari neutrofili hanno nella vita dell'organismo una grande importanza, che si esplica nel decorso e nella guarigione delle malattie infettive per la loro proprietà di assorbire ed uccidere i batteri (fagocitosi).

Il numero dei neutrofili nel sangue normale di cavallo, è secondo Wieerdieck di 4000-5000, e secondo Franke, di 6.270 per millimetro cubico. Si trovano nella proporzione del 55-60 °/₀ nel cavallo, del 70-72 °/₀ nel bue (Moussu).

Cellule eosinofile.

Sono analoghe ai polinucleari neutrofili, soltanto il nucleo è più tozzo ed anche più povero in cromatina.

Le granulazioni sono notevolmente più grandi e fortemente rifrangenti tanto da poter essere riconosciute anche in un preparato non colorato. Esse si colorano intensamente coi componenti acidi della soluzione colorante e appaiono quindi, col maggior numero dei metodi, colorati in rosso brillante. Semmer nel 1878 per primo descrisse gli eosinofili del cavallo.

Gli eosinofili del cavallo hanno delle dimensioni che variano da 13 a 17 μ. Il numero delle granulazioni per ciascun elemento è assai vario, Durroux ne ha contato 44 nel cavallo, ma può essere minore circa 25 per cellula. Il loro volume varia da 1 a 3 μ.

Per quanto riguarda la morfologia delle cellule eosinofile dei bovini riportiamo alcune osservazioni fatte dal Vallillo, che concordano perfettamente colle nostre. Queste cellule sono circa quattro volte più grandi di un globulo rosso dei bovini; ordinariamente hanno un solo nucleo, ma non sono rare le forme con due nuclei, e, sebbene con minore frequenza, si trovano anche quelle trinucleate. I nuclei si presentano sotto le forme le più svariate: di S, di V, di Y, di E, di uncino, di anello, più comunemente di ferro di cavallo o di bisaccia, con sinuosità e rilievi multipli. Nelle cellule polinucleate i nuclei possono essere di grandezza e di forma pressochè uguale oppure affatto differenti. Rispetto alla colorazione essi si comportano come i nuclei dei neutrofili, cioè assumono la stessa intensità di colorazione di questi ultimi.

I granuli eosinofili del protoplasma sono numerosissimi e molto piccoli: più piccoli di quelli dell'uomo e della cavia; sono disposti irregolarmente gli uni accanto agli altri, in certi punti più fitti, in certi altri più radi, ma senza lasciare delle lacune nell'interno o delle grandi incisure sul contorno.

L'importanza della dimostrazione del numero degli eosinofili nel sangue sta sopratutto in ciò, che essi al pari dei neutrofili, risentono evidentemente certe influenze chemotattiche e in certi stati patologici sono aumentati; ciò dicasi sopratutto per le elmintiasi e per certe malattie cutanee.

Nella maggior parte delle malattie infettive febbrili gli eosinofoli scompaiono più o meno completamente dal sangue, per poi nella convalescenza presentare spesso un aumento.

Molte ricerche furono spese nello studio delle eosinofilie locali, attorno a focolai infiammatori.

Il numero normale degli eosinofili del sangue, sempre secondo le ricerche di Franke è nel cavallo di 550 per millimetro cubico, secondo Wiendieck invece di 200-350.

Nel sangue dei bovini normali Utendörfer stabilirebbe oscillazioni abbastanza ampie dal 2 al 15 %, escludendo che l'età e il sesso possano avere qualsiasi influenza. Fölger dà come massimo limite fisiologico il 20 %. Vallillo trova in tre vacche, in apparenti condizioni di sanità, percentuali un po' più elevate, ossia rispettivamente 34,20 %, 37,50 %, 17,60 %.

Mastcellule o cellule basofile.

Sono leucociti a nucleo polimorfo, per lo più un po' più piccoli dei sopradescritti. Il nucleo è meno polimorfo che non nei neutrofili e negli eosinofili.

Le granulazioni talora abbastanza grosse, spesso allungate, si contraddistinguono dalle altre per la loro proprietà di assorbire i colori basici, in modo da assumere un tono diverso da quello del nucleo (colorazione metacromatica). Queste cellule allo stato normale sono molto rare. Haym le vide e le descrisse nel sangue di cavallo nel 1899.

Nel cavallo sembra che le granulazioni protoplasmatiche siano più facili a conservarsi che non quelle dell'uomo. Esse sono sempre molto nette rotonde e facilmente colorabili.

Nel cavallo secondo Wiendieck si trovano in un c.c. di sangue da 20 a 60 mastcellule.

Il numero totale dei globuli bianchi nel sangue normale.

I diversi ricercatori, per quanto riguarda il numero totale dei globuli bianchi nel sangue normale, hanno indicate percentuali alquanto differenti. Questo fatto è da attribuirsi a diversi fattori: le differenze nella tecnica usata (tecnica che dovrebbe tendere il più possibile all'uniformità, metodi di indagine differente, la diversità dei procedimenti), modo di ottenere le goccie di sangue nelle regioni differenti ove i prelievi sono stati fatti, lo stato degli animali, in preda a inevitabili variazioni fisiologiche. Vediamo quindi i risultati ottenuti dai singoli autori nel cavallo: Bidault stabilisce che la cifra media dei leucociti per mmc. è di 11.000. Malazzes ne riscontra soltanto 4500. Lesbre dà la cifra media di 9000 e Courmont e Montagard quella di 12.000 globuli bianchi per mmc.

Rössle ha esaminato dei cavalli di tre anni e di minore età. Il numero dei leucociti per millimetro cubico varia, secondo lui, da 5,500 a 10,500. I giovani cavalli hanno un numero maggiore di globuli bianchi, che non i vecchi. I cavalli grossi da tiro hanno un numero minore di leucociti che non i cavalli di puro sangue. Questo autore non ha constatato influenze relative al sesso, nè alla digestione, sul numero assoluto dei leucociti. Ha osservato invece che la presa del sangue in una vena (giugulare) fornisce dei valori leucocitari più elevati che non la raccolta in pieno tessuto o sui tegumenti.

Il numero medio dei globuli bianchi del cavallo, dedotto dalle cifre indicate dagli autori che lo precedettero, è, secondo Gasse, di 10.255,17 per m.c. Le sue esperienze personali dànno questi risultati:

9000 nel cavallo intero
6900 nella cavalla
8500 nel cavallo castrato.

Le numerazioni fatte da Franke lo portarono a ritenere normali le oscillazioni che avvengono fra 7200 e 8800 elementi per millimetro cubico.

Sabrazès, Muratet e Durroux ottengono in un cavallo numero 6820 leucociti per mmc. in una cavalla, numero 6820 per mmc. Durroux negli esami eseguiti su cavalli subito dopo il pasto ottiene cifre che oscillano fra 4960 e 11.540, la media è 7393 per mmc. Secondo questo autore il numero dei globuli bianchi è superiore nei cavalli, 7268, che non nelle cavalle, dove è di 5786.

In base alle ricerche da lui eseguite Storch riferisce per il cavallo le seguenti cifre:

Cavallo intero . .	N. 10.500
» castrato . .	» 11.000
Cavalla	» 9.900
Puledro . . .	» 14.000

e per il bue queste altre:

Toro	N. 7.800
Bue	» 9.400
Vacca	» 8.200
Vitello	» 15.700

Infine per il cavallo i seguenti autori dànno ancora le seguenti cifre:

Moretti . . .	N. 15.000
Ellemberger e Scheunert	» 6-8.000
Friedberger e Fröhner	» 8.500
Malkmus . . .	» 11.350
Wiendieck, nello stallone	» 9.347
nel castrato	» 8.241
nella cavalla	» 7.885
Hayem . . .	» 9.500
Meier	» 8.500
Marek	6-12.000
Nicolas e Courmont	» 7.000
Macchia . . .	» 9.500
Mikrukow. . .	» 12.000

Tabusso, nel castrato	N. 8.185	- estremi	6.900 —9.300
nella femmina	» 7.140	»	6.200 —7.900

Dalle surriferite cifre dei varî autori, comparate con quelle ottenute nelle nostre ricerche, le quali però non raggiungono l'altezza segnalata da Storch, nel cavallo possiamo dedurre le seguenti medie:

Nello stallone . .	N. 9.170
Nel castrato . .	» 8.370
Nella cavalla . .	» 7.390
Nel puledro. . .	» 10.500.

Le cifre medie, da noi ottenute per la specie bovina sono:

Toro	N. 8.230
Bue	» 8.480
Vacca . . .	» 7.960
Vitello	» 10.370

Delle variazioni fisiologiche e patologiche nel numero totale dei leucociti, ne parliamo più oltre.

Rapporto normale fra i globuli rossi e globuli bianchi.

Abbiamo già accennato, e lo diremo meglio in seguito, che il numero dei globuli bianchi può avere già nel limite fisiologico sensibili oscillazioni. Ne deriva logicamente che il rapporto fra globuli bianchi e rossi non può essere indicato da una costante, ma da cifre approssimative. Nocard lo considera normale nel cavallo quando si aggira fra i quozienti: 1: 800 e 1: 1100, Durroux fra quelli 1: 1106 e 1: 629.

Storch stabilisce i seguenti valori medî:

Cavallo intero . . .	1: 780
» castrato . .	1: 690
Cavalla	1: 720
Puledro	1: 670
Toro . . , . .	1: 820
Bue	1: 720
Vacca	1: 660
Vitello . . , .	1: 550

Secondo i seguenti autori il rapporto fra leucociti ed eritrociti sarebbe indicato secondo le frazioni che riferiamo:

Moretti	1: 300 — 1: 400
Ellemberger e Scheunert	1: 800 — 1: 1000
Malkmus	1: 715

Vedremo in seguito le variazioni notevolissime che subisce questo rapporto nelle condizioni patologiche, in base alle modificazioni talvolta rilevanti che i leucociti soffrono nel decorso di certe malattie.

Leucociti patologici.

Le forme patologiche di leucociti corrispondono alle cellule madri dei leucociti normali del sangue, che scorre negli organi emopoietici e specialmente nel midollo osseo. In condizioni patologiche si possono ritrovare nel sangue tali forme giovanili dei leucociti normali, oppure delle forme di passaggio.

Mielociti.

Essi corrispondono alle forme giovanili mononucleari dalle quali discendono nel midollo osseo tutte le diverse specie di leucociti colle rispettive tipiche granulazioni. Si distinguono perciò i *mielociti neutrofili*, *eosinofili* e i *mastmielociti.* I nuclei hanno un aspetto rotondo, oppure leggermente irregolare, ed hanno uno stroma nucleare a fine maglie, con un colore discretamente pallido e con dei corpuscoli nucleari più o meno appariscenti. La loro grandezza è variabilissima. Il protoplasma è ora più stretto, ora più largo ed è tipicamente granulare. Fra i mielociti, come nel midollo, anche nel sangue patologico quelli dominanti sono i neutrofili, che sono sopratutto caratterizzati dalla presenza di granuli neutrofili nel protoplasma, i quali non si distinguono dai granuli degli elementi corrispondenti adulti. Tutt'al più esiste in certi mielociti una certa basofilia delle granulazioni. Si tratta allora, come per le granulazioni eosinofile, di proprietà giovanili,

sintomo di immaturità. Il protoplasma dei mielociti è spesso ma non regolarmente più spiccatamente basofilo di quello dei polinucleari.

Soltanto in circostanze particolari i mielociti giungono nel sangue circolante, specialmente quando esiste una iperplasia spiccata del tessuto midollare, ad es., nella leucemia mieloide. Inoltre vi giungono, per quanto in numero un po' più piccolo, anche nelle gravi anemie, ossia in genere quando l'attività midollare è aumentata. La presenza nel sangue di mielociti eosinofili e basofili numerosi è quasi esclusiva della leucemia mieloide. Anche le setticemie possono portare a stati irritativi flogistici e di esaurimento del midollo osseo, con relativa scarsa comparsa di mielociti nel sangue circolante.

Linfociti grandi.

Nella leucemia linfadenoide, più di rado in altre linfadenosi, si osservano nel sangue dei linfociti grandi, assai delicati. Sono assai labili e nel preparato a striscio sono spesso schiacciati.

Le cellule hanno assolutamente le stesse proprietà dei linfociti piccoli, ossia protoplasma non granuloso, fortemente basofilo, che attornia il nucleo in forma di una striscia sottile. Anche il nucleo assomiglia a quello dei piccoli linfociti superandoli però di gran lunga in grandezza, i nucleoli sono bene evidenti.

Mieloblasti.

Dai linfociti grandi è stata recentemente separata da Nägeli una forma cellulare, cui egli diede il nome di mieloblasti. Essi compaiono nel sangue in grande quantità, specialmente quando una leucemia mieloide si svolge in modo rapido, per es., nelle leucemie acute, più di rado in altre condizioni.

Si tratta per lo più di cellule abbastanza grandi, con un protoplasma relativamente ampio, spiccatamente basofilo, non granuloso ed un nucleo ovale, abbastanza ricco di cromatina. Assomigliano dunque assai alle forme più grandi dei linfo-

citi, tanto che diversi autori negano la possibilità di separare morfologicamente queste cellule dai linfociti.

Secondo certi autori corrispondono alle cellule midollari non granulari, cioè agli stadî anteriori non granulari dei mielociti.

Plasmacellule.

Le plasmacellule o forme irritative di Tuerk sono di reperto molto raro nel sangue circolante. Sono pure dei derivati dai mieloblasti. Essi si distinguono per una colorazione basofila specialmente intensa del protoplasma e si trovano nelle medesime circostanze in cui si trovano i mieloblasti.

Il Durroux afferma di aver riscontrato anche nel sangue di cavalli sani, alcuni grandi linfociti, che egli chiama linfocitoidi di grande taglia. Il loro numero oscilla, secondo tale autore, da 0,45 a 1,14 °/₀ nel cavallo adulto e nel puledro da 0 a 2,46 °/₀. Il loro protoplasma contiene talvolta alcune granulazioni azzurrofile con o senza spazio vacuolare attorno.

Durroux afferma ancora di avere pure osservato, sempre nel sangue di cavalli sani, tanto negli adulti che nei puledri, nelle proporzioni di una frazione di unità per cento delle plasmacellule o cellule d'irritazione di Türk, che egli chiama « elementi linfocitoidi a largo bordo citoplasmatico ».

Distinzione genetica e funzionale delle varie forme di leucociti.

Crediamo opportuno richiamare alcune nozioni elementari sulla genesi e sulle funzioni normali dei leucociti, per comprendere meglio le variazioni cliniche che possono essere osservate durante i varî stati patologici.

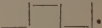
Fra linfociti e leucociti a nucleo polimorfo non vi sarebbe alcuna relazione, essi apparterrebbero a due sistemi distinti. « Mentre i linfociti si formano nei tessuti linfatici, le cellule a nucleo polimorfo si formano esclusivamente nel midollo

osseo e solo in casi patologici (leucemia mieloide) anche nella milza, nel fegato e nelle ghiandole linfatiche, che in questo caso presentano focolai di tessuto mieloide. Altre differenze consistono nella capacità di movimenti attivi, nella fagocitosi e nella produzione di fermenti, proprietà tutte che appartengono alle cellule a nucleo polimorfo. Se si pone in termostato una piastra di siero di sangue seminata di pus si osserveranno dei fenomeni di digestione derivanti dal fatto che il pus contiene cellule a nucleo polimorfo (v. pag. 94). Contro questi importanti criterî differenziali hanno un peso, relativamente scarso, le forme di passaggio fra questi due tipi di cellule. Linfociti si trovano anche nel midollo osseo, ma possono essersi formati nei follicoli del midollo e non aver quindi alcun significato genetico.

Anche in condizioni patologiche i due tipi di cellule conservano le loro caratteristiche. Mentre nei processi infiammatori acuti noi osserviamo quasi sempre un aumento dei leucociti a nucleo polimorfo, che migrano e formano il pus, nelle infezioni croniche, specialmente nella tubercolosi, vediamo predominare i linfociti nei secreti e nei focolai suppurativi. La stessa distinzione v'è fra la leucemia mieloide e la linfemia. Nella prima la neoformazione morbosa colpisce i leucociti a nucleo polimorfo ed i mielociti ad essi geneticamente legati. Nella linfemia si osservano nel sangue esclusivamente le diverse forme di linfociti.

Non è sempre stabilito se le cellule eosinofile e basofile debbano essere considerate come formanti un tipo a sè o se devono essere considerate come provenienti dalle cellule a nucleo polimorfo o dai mielociti per secrezione dei granuli caratteristici.

Proporzione numerica delle varie forme di leucociti (formula leucocitaria)

Sua determinazione e variazioni fisiologiche.

È importante dal punto di vista pratico conoscere la proporzione in cui stanno le diverse forme di leucociti nel sangue normale e il poter stabilire le modificazioni che cia-

scuna specie di essi assume in seguito ad alterazioni patologiche del sangue stesso. Abbiamo visto che la numerazione degli elementi figurati del sangue ci rende edotti sulla cifra assoluta delle emazie e dei leucociti e sul rapporto fra queste cifre, ora col metodo che veniamo descrivendo è possibile stabilire la proporzione di ciascuna varietà di leucociti, ottenendo in tal modo la cosidetta « formula leucocitaria del sangue », che dà appunto la percentuale di ciascuna di tali varietà.

Come la numerazione dei globuli, così pure il computo della formula leucocitaria è una operazione molto semplice in apparenza, ma che è soggetta a numerose cause d'errore, tanto che i risultati ottenuti non sempre sono degni di considerazione assoluta.

La determinazione di una formula buona richiede prima di tutto degli strisci ben fatti e completi. Occorre che la goccia di sangue sia uscita dalla ferita senza pressione, che sia piccola e stesa completamente. Si comprende, infatti, che se una parte della goccia è trattenuta dal vetrino strisciante, la formula è falsa. Gli strisci fatti con una carta da visita o con altro cartoncino dànno facilmente delle formule leucocitarie false, perchè la carta assorbe una parte degli elementi.

Gli strisci debbono essere colorati con un metodo panottico (forniscono ottimi risultati il Pappenheim e il pancromo) che permetta di riconoscere, con una sola preparazione, tutte le varietà di leucociti.

Per stabilire la formula leucocitaria, si esamina dunque metodicamente uno striscio, servendosi del tavolino traslatore. Si osserva di preferenza sui bordi e verso le estremità degli strisci, nelle zone in cui i leucociti sono ripartiti uniformemente, mentre si abbandonano le parti ove i leucociti sono ammassati gli uni egli altri ed ove non si trovano che delle forme grosse di essi. Il meglio si è esplorare i bordi dei leucociti descrivendo una linea in questo senso: |__|¯¯|__|.

Noi in considerazione al fatto che, nell'esecuzione degli strisci di solito i leucociti a nucleo polimorfo avendo un peso specifico più leggero, si dispongono volentieri, quando lo strisciamento sia stato fatto lentamente, alle parti più vicine al bordo (Ziegler), per cui in queste vengono a trovarsi in

proporzione più alta, di modo che i risultati possono essere falsati (di ciò ci siamo resi conto cedendo ad altri l'incarico di stabilire la formula leucocitaria su vetrini, dove noi avevamo già eseguita tale operazione, derivandone risultati non concordanti), per ovviare dunque a questo inconveniente abbiamo seguito una tecnica un po' diversa da quella ora indicata ed affermiamo di essercene trovati pienamente soddisfatti. Invece di spingere la nostra osservazione ai bordi del preparato, preferiamo rivolgerla alla parte centrale di esso, ove la distensione del preparato è più omogenea ed uniforme. Prima di sottoporre il vetrino al microscopio, tracciamo sulla parte a quella opposta ove il sangue è steso, colla penna, un quadratino di 2 × 1 cm., l'ombra nerastra che si osserva poi, durante la osservazione, ci è di guida per non uscire dal quadratino stesso. Così i risultati ottenuti da noi collimavano perfettamente con quelli riferiteci da un collega, nell'esame degli stessi preparati.

Si contano 200-300 leucociti e si segnano singolarmente sopra un foglio preparato diviso in tante colonne quanti sono i tipi dei globuli bianchi. Così ogni globulo bianco riscontrato è segnato con un tratto, nella colonna che gli corrisponde.

Eseguita l'operazione si fa la somma nelle singole colonne e si ha la percentuale esatta di ogni singola specie di globuli bianchi. Se invece di duecento, si contano come è meglio, trecento elementi, la somma delle relative colonne è poi divisa per tre, invece che per due.

Seguin e Mathis, per la segnalazione delle varietà diverse di leucociti, hanno proposto un metodo rapido e molto comodo. Si preparano da una parte in una scatola 500 perline di vetro, da un'altra parte tante scatole vuote quanti sono i tipi dei leucociti. L'operatore nomina ad alta voce i leucociti man mano che li trova e un aiuto mette ogni volta una perlina nella scatola corrispondente. Quando le 500 perline sono state impiegate tutte, si contano quelle di ciascuna scatola, salvo in quella che ne contiene la maggior parte. Si stabilisce la percentuale dividendo per 5 e si ha la cifra degli elementi dell'ultima scatola per sottrazione.

Zollikoffer eseguisce il conteggio differenziale delle singole specie di leucociti servendosi delle seguenti soluzioni:

I.

Eosina	0,05
Formalina concentr. (40 °/₀) .	1,00
Acqua distillata	100,00

filtrare.

II.

Bleu di metilene	0,05
Formalina concentr.	1,00
Acqua distillata	100,00

filtrare.

Le due soluzioni si mescolano a parti uguali immediatamente prima dell'uso. In questa miscela il sangue è diluito all'1/20 colla pipetta per leucociti di Zeiss (vedi pag. 101) e rapidamente agitato. Le emazie rimangono invisibili, mentre i leucociti sono conservati e le singole forme distinguibili; gli eosinofili sono colorati in giallognolo fino al rosso carmino, i neutrofili in violetto grigio, i basofili rimangono incolori, i leucociti privi di granulazioni si differenziano per la grandezza dello strato di protoplasma e del nucleo.

Schüffer eseguisce pure la numerazione e la formula leucocitoria in un tempo unico servendosi della seguente soluzione:

Cloruro di sodio. . .	gr.	4
Acido fenico	»	3
Formolo	»	1
Borace	»	0,10
Acqua distillata . . .	»	1000,00

A 10 c.c. di questa soluzione, aggiunge una o due goccie di bleu policromo di Unna (bleu di metilene puro gr. 1, carbonato di potassio gr. 1, alcool a 90° cc. 20, acqua distillata c.c. 100; far bollire fino alla riduzione del volume a cc. 100).

Stitt invece usa semplicemente del Giemsa diluito con formolo al 5 p. 100.

Onde attribuire, di fronte ad interpretazioni cliniche, il giusto valore, che la formula leucocitaria deve assumere nella

diagnosi delle diverse malattie, ci sembrano opportune alcune osservazioni emesse dal Sahli che noi qui riportiamo:

« Qualunque degli anzidetti metodi per la numerazione delle singole varietà di leucociti si voglia adoperare, si consiglia sempre di giudicare le cifre relative, tenendo conto della cifra assoluta complessiva dei leucociti stabilita col metodo ordinario della camera di conteggio, sulle cifre assolute per millimetro cubico del sangue, giacchè le cifre relative naturalmente hanno un significato molto meno determinato e giacchè in tale modo si ha il vantaggio di fissare le alterazioni della costituzione del sangue graficamente, sotto forma di curve, che ne permettono l'apprezzamento in un colpo d'occhio ».

Allo stesso modo che le nostre conoscenze sulla leucocitosi subirono un lungo arresto, finchè l'attenzione si concentrò esclusivamente sul rapporto qualitativo, dipendente da due variabili, corpuscoli bianchi e corpuscoli rossi, così, del pari, anche la limitazione delle ricerche ad assodare il rapporto numerico fra le singole varietà di leucociti e l'essersi dato assai meno pensiero delle cifre assolute degli ultimi ha esercitato come un arresto sulle nostre conoscenze.

Tutta la dottrina delle leucemie e delle pseudoleucemie soffre di questa rappresentazione dei risultati dei conteggi differenziali espressi ancora oggi solo in percentuale, e noi ci addentriamo assai più nelle nostre conoscenze, quando in queste malattie indichiamo sempre le cifre assolute delle singole varietà di leucociti per millimetro cubico di sangue, in quanto che, come si comprende di per sè, già un aumento, o una diminuzione assoluta di una determinata varietà di leucociti permette senz'altro di concludere per un disturbo irritativo o depressivo di funzione del tessuto madre dei corrispondenti leucociti, mentre dalle cifre relative, rispettivamente percentuali, quando esse non sono valutate prima in cifre assolute, tale conclusione è impossibile.

Nella tavola annessa abbiamo voluto riunire in modo schematico i risultati ottenuti dai diversi autori nelle loro ricerche spese a stabilire la formula leucocitaria normale del cavallo.

Tabella delle formule leucocitarie del cavallo ottenute dai diversi autori:

	Linfociti	Mononucleari	Forme di passaggio	Neutrofili	Eosinofili	Mastcellul
Bidault	12	25	—	58	4	—
Franke	15 - 35	—	2,5 - 12	60 - 75	0,8 - 5	0 - 0,4
Gasse	23,7 - 41,3	—	0 - 3,05	52 - 73	0,52 - 5,83	0 - 0,4
Goetze	19 - 25	4-14	—	59 - 70	1 - 3	—
Ellemberger - Scheunert .	30 - 40	2,5 - 3,5	—	60	2 - 4	0,5
Marek . . . , .	20 - 40	1	2,5 - 4,5	55 - 70	2 - 4	0,5
Meier	30	1	2,5	63,5	3	—
Schütze	10,30	18,94	8,59	56 - 64	5,12	0,39
Wiendieck . . .	35 - 45	1,5 - 3,5	—	50 - 70	1,5 - 4,8	0,2 - 0,7
Tabusso	30 - 42	1,6 - 5	—	51,2 - 65,5	0,5 - 6	0 - 1
Fischer	22,5	1	4,5	67	5	—
Cozette	34 - 38	—	—	60 - 65	1 - 2	—
Malkmus	10 - 15	25 - 30	—	55 - 60	5	—
Sabrassez - Muratet - Durroux	28,78 - 41,03	5,55 - 2,83	0,50 - 0,47	60,60 - 52,83	4,54 - 2,83	—
Durroux	29,85	5,51	0,47	58,10	4,61	0,18
Heller	10,78 - 48,36	0,95 - 27,66	—	31,05 - 71,69	0,38 - 7,35	0 - 0,40

Il Durroux completa la sua formula coll'aggiunta di altri tipi di leucociti considerati patologici che vogliamo ricordare (Conserviamo le denominazioni da lui date, per le cui interpretazioni rimandiamo a pag. 154. D'altronde le designazioni e i tipi di leucociti secondo le varie scuole diversificano alquanto, ma noi non siamo entrati nella questione, che esorbita dal campo, che ci siamo prefissi):

Grandi elementi linfocitoidi . . 1, 19 %
Elementi limfocitoidi a larga bordura citoplasmatica 0,08

Data l'affinità di prodotto o di specie ci sembra utile ricordare anche i rapporti leucocitari stabiliti da Durroux per il mulo e per l'asino.

Per il mulo:

Grandi elementi linfocitoidi	da	0	a	0,76	media	0,9
Linfociti ordinarii . .	»	28,4	»	58,12	»	39,12
Grandi mononucleati . .	»	1,25	»	9,09	»	4,06
» » a nucleo multilobato . . .	»	0,30	»	1,89	»	0,47
Leucociti polinucleari neutrofili	»	38,75	»	59,31	»	53,63
Leucociti eosinofili . .	»	1,25	»	6,96	»	2,5
Mastleucociti . . .	»	0,37	»	0,47	»	0,15

Per l'asino:

Grandi elementi linfocitoidi	da	0,36	a	1,49	media	0,35
Linfocidi ordinari . .	»	21,18	»	56,41	»	36,51
Grandi mononucleati .	»	0,68	»	10,25	»	5,06
» » a nucleo multilobato (forme di passaggio)	»	0,35	»	1,28	»	0,19
Leucociti polinucleari neutrofili	»	28,20	»	68,53	»	47,56
Leucociti eosinofili . .	»	2,56	»	23,53	»	10,04
Mastleucociti	»	0,32	»	1,28	»	0,24

Per la specie bovina secondo Moussu si hanno:

Linfociti . . circa	22-25 %
Grandi mononucleari .	25-30
Neutrofili . . .	70-72
Eosinofili . . .	1-2

Secondo Cozette:

Polinucleari . . .	70-72 %
Mononucleari . . .	26-28 »
Eosinofili	1-2 »

Il Muktesar fece ricerche su bovini sani dell'Himalaya, a 2500 metri e le percentuali da lui ottenute, sarebbero:

Linfociti	n. 54
Grandi mononucleari . .	» 5
Forme di passaggio . .	» 6
Neutrofili	» 31
Eosinofili	» 4

I risultati che noi abbiamo ottenuti, nel computo della formula leucocitaria, in bovini di differente età, con tutte le apparenze di buonissime condizioni di salute, sono riuniti nel seguente specchietto:

	Vitello di 2 giorni	Vitello di 20 giorni	Vitello di 30 giorni	Vitello di 60 giorni	Toro	Bue	Vacca
Linfociti	38	51	50	54	38	43	39
Grandi mononucleari	3	6	11	8,5	3	4	6
Forme di passaggio .	2	5	6	2,5	4	3	4
Neutrofili	54	37	31	35	43	44	38
Eosinofili	3	1	1,5	—	—	5,5	11
Mastcellule	—	—	0,5	—	2	0,5	2

Leucocitosi e leucopenia.

Il numero dei leucociti nel sangue circolante va soggetto a grandi oscillazioni. L'aumento di esso vien detto *leucocitosi*, la diminuzione, *leucopenia.*

Nella leucocitosi si possono avere alte cifre di leucociti nel sangue.

La leucocitosi si differenzia dalla leucemia specialmente per le specie di leucociti che sono in aumento: nella prima sono in grande soprannumero quelli normali, nella seconda quelli patologici. Inoltre mentre nella prima l'aumento è solitamente transitorio, nella seconda è stabile. Ma anche nei casi molto dubbi, in generale, dice Morawitz, non vi può essere dubbio, su quanto si deve intendere come leucemia e quanto come leucocitosi.

Non si deve tener conto soltanto del reperto ematico, ma anche degli altri fenomeni; e allora sarà assai difficile errare nel giudicare un reperto insolito ed oscuro.

Per poter comprendere la leucocitosi devesi ricordare, dice Morawitz, che i leucociti sottostanno alle leggi della

chemotassi, che scoperta da Pfeiffer fu da Leber applicata allo studio dei processi vitali dei leucociti. Ci sono molte sostanze che attraggono i leucociti: a queste appartengono i prodotti del ricambio di molti batterii, inoltre delle sostanze chimiche, come l'olio di trementina, l'acido nucleinico, ecc.

La chemotassi colla quale si spiega la leucocitosi da Leber in poi, non può essere la sola causa di essa. Onde possa avvenire la leucocitosi devono anche essere formati nel midollo osseo leucociti sufficienti, deve pertanto esercitarsi uno stimolo proliferativo sul midollo osseo. E' almeno verosimile, che le stesse sostanze, che causano la migrazione dalla corrente sanguigna e l'aumento locale dei leucociti polimorfonucleati, presiedono anche alla loro aumentata neoformazione dai mielociti del midollo osseo. Con ragione Nägeli fa osservare che i fenomeni della chemotassi negativa e positiva, quali si osservano nelle cellule liberamente mobili, per es., nelle spore di certe piante, non rappresentano tutto quanto il campo della leucocitosi: la leucocitosi è una reazione organica e consta, nella maggior parte dei casi, di due fattori: in primo luogo l'attrazione dei leucociti polimorfonucleati per opera di sostanze chemotattiche, in secondo luogo l'azione di stimolazione di queste sostanze sul midollo osseo.

Questo secondo elemento dovrebbe essere in molte forme di leucocitosi, nelle quali non si ha un aumento locale dei leucociti, assai più importante della chemotassi, ciò per esempio nelle leucocitosi nel corso di molte malattie infettive.

Nello stesso senso va considerata la leucopenia, essa pure non va considerata soltanto dal punto di vista della chemotassi. Se fosse in gioco soltanto una chemotassi negativa, si dovrebbe trovare in qualche parte un accumulo dei leucociti usciti dal sangue e il midollo osseo dovrebbe essere particolarmente ricco in mielociti e leucociti polinucleari. Invece accade il contrario. Ciò parla con grande verosimiglianza per il concetto, che la leucopenia sia espressione di un'offesa primaria del midollo osseo. Lo stesso stimolo può talvolta provocare leucocitosi, talvolta per contro leucopenia, secondo la sua intensità.

Una inondazione improvvisa e forte nel sangue di sostanze tossiche, che in piccole dosi provocano leucocitosi,

provoca leucopenia. E ciò non è affatto straordinario anche se non si ha tendenza a porre la chemotassi in prima linea: in quanto che è dato biologico generale che gli stimoli forti hanno per conseguenza, non la stimolazione, ma la paralisi della funzione.

Riassumendo nella genesi della leucocitosi sono in giuoco anche influenze chemotattiche, ma più importante dovrebbe essere lo stimolo proliferativo che viene esercitato sul midollo osseo dalle tossine penetrate nell'organismo o da altre sostanze chimiche. La leucopenia va spiegata sopratutto coll'insufficienza degli organi ematopoietici; essa a sua volta è per lo più conseguenza di stimoli abnormemente forti, in certi casi anche di altre alterazioni anatomiche (formazione di linfomi, tumori, ipoplasie) del midollo osseo.

La forma più frequente della leucocitosi è l'aumento dei polinucleari neutrofili (*polinucleosi*). Ci sono però anche degli degli stimoli che agiscono in modo affatto specifico su altri elementi del midollo osseo, p. es., sugli eosinofili (*eosinofilià*). Gli aumenti essenziali delle mastcellule sono rari, a parte quelli della leucemia mieloide.

I linfociti non sono evidentemente esposti ad influenze generali nello stesso modo delle cellule del midollo osseo. Si conoscono però anche aumenti genuini dei linfociti (*linfocitosi*) nel sangue, ossia aumenti che non sono soltanto relativi e simulati da una diminuzione degli elementi granulari. Ciò s'intende prescindendo dalla leucemia linfoadenoide.

Basandosi sulle ben note proprietà antitossiche, fagocitarie e fermentative dei leucociti, non ci può essere alcun dubbio, che la leucocitosi è nella maggior parte dei casi una congrua reazione di difesa dell'organismo (Morawitz).

Secondo Kitt nei nostri animali, cavallo e bue, si riscontra leucopenia specialmente nei casi di inanizione e in certi casi di avvelenamenti.

Leucocitosi fisiologiche.

I leucociti possono variare nelle condizioni fisiologiche sia nel loro numero totale come nelle singole specie di essi.

Bidault ritiene che nella vecchiaia i cavalli presentino

un numero maggiore di poninucleati, mentre diminuiscono i mononucleati e scompaiono i basofili.

Fischer avrebbe osservato che i cavalli adulti hanno più polinucleari che non i puledri.

Abbiamo già detto che secondo Rössle i giovani cavalli hanno un numero maggiore di leucociti che non i vecchi. Secondo tale autore poi nessuna influenza sul numero assoluto dei globuli bianchi sarebbe da attribuirsi al sesso.

Invece secondo la maggior parte degli autori nel cavallo e secondo Storch e Utendorfer nel bovino esistono reali differenze in rapporto al sesso.

Ecco in riassunto i dati ottenuti da Bidault secondo le età del cavallo:

	3 mesi	2 anni	4 anni	7 anni	11 anni	22 anni
Linfociti	17	23	10	17	14	12
Mononucleari	47	37	33	24	25	20
Polinucleari neutrofili	32	37	53	53	57	60
Eosinofili	2	2,5	4	6	4	4
Basofili	0,22	—	—	—	—	—

Dalle cifre riferite prima, riguardo al numero fisiologico dei leucociti, si deduce che anche la castrazione influisce nel modificare il numero di tali elementi.

I dati sull'esistenza di una leucocitosi digestiva nei nostri animali domestici sono in gran parte contradditorii.

Malkmus ammette l'esistenza di una leucocitosi digestiva, mentre Fischer la nega. Essa è constatata nei cani, sottoposti a un nutrimento albuminoso, mentre invece manca in quelli alimentati con idrati di carbonio, grassi, sale ed acqua. Secondo Storch il comparire di un aumento di leucociti nel cavallo e nel bue, durante la digestione, è molto discutibile. Utendörfer pensa che, essendo la nutrizione degli erbivori molto meno ricca in albumina, si dovrebbe ritenere che una leucocitosi digestiva non possa effettuarsi in questi animali. Così, secondo le sue esperienze, nel vitello, ove l'alimentazione è lattea si verifica una vera leucocitosi digestiva, nel senso, col quale è interpretata in medicina umana, nel bovino adulto riscontrò pure un tale fenomeno ma

in questo caso lo interpreta come una conseguenza della ripienezza dello stomaco.

Bidault in una sola esperienza sul cavallo è riuscito invece a dimostrare l'esistenza di una vera leucocitosi digestiva, che ha prodotto oltre una certa leucocitosi anche polinucleosi e leggera eosinofilia.

Interessanti sono le ricerche di Wiendieck, il quale lasciando digiunare tre cavalli sani per 13 ore e visitandoli poi di tre in tre ore, osservò alla terza e sesta ora un aumento numerico di leucociti, che prima si mantenevano nei limiti normali. Fra le specie di leucociti erano proporzionalmente più elevati i polinucleari neutrofili. Wiendieck, fondandosi sulle sue osservazioni, crede di poter rifiutare il concetto di Storch e Utendörfer, secondo il quale un nutrimento vegetale non potrebbe provocare leucocitosi digestiva.

Questo autore e Tabusso affermano ancora che durante la giornata si possono verificare leggere oscillazioni nel complessivo numero dei leucociti, ma che esse non sono tali, per cui debbano costituire preoccupazioni di fronte ad eventuali cause d'errore negli esami a scopo diagnostico.

Cozette ammette, per il cavallo e il bue, la leucocitosi fisiologica nel neonato, durante la gravidanza, durante il parto, durante la lattazione, nel surmenage e dopo il salasso.

Tabusso pure osserva nel cavallo una leggera leucocitosi digestiva.

Durroux che ha condotto delle ricerche vaste e serie sul sangue del cavallo, riguardo alle modificazioni leucocitarie giunge a queste conclusioni:

Nel puledro i rapporti leucocitarii variano coll'età. Le grandi forme linfocitoidi, vere cellule d'origine, esistono nel puledro come nel cavallo adulto, senza predominanza marcata nei giovani soggetti.

Gli eosinofili e le mastcellule mancano 48 ore dopo la nascita; gli eosinofili appaiono in seguito, aumentano progressivamente da 0,45 a 5 °/₀, con una media di 1,68 °/₀ nel puledro, di 4,61 °/₀ nell'adulto e di 2,83 °/₀ nei vecchi cavalli.

I mastleucoliti assenti nel puledro aumentano di numero coll'età e raggiungono l'1,22 °/₀ nei vecchi soggetti.

Ciò che caratterizza il sangue del puledro al secondo

giorno, è il suo ravvicinamento col sangue dell'adulto, salvo in ciò che concerne gli eosinofili che mancano; poi nei giorni seguenti il tipo ematologico giovanile s'accusa, marcato sopratutto dalla linfocitosi con bassa corrispondenza dei polinucleati neutrofili. Bisognerà adunque tener conto dell'età per apprezzare le condizioni leucocitarie del sangue.

Le formule leucocitarie dei vecchi cavalli e dei cavalli adulti non diversificano molto da quella media stabilita dallo stesso autore e che figura nella nostra tavola.

I cavalli a digiuno, che non abbiano mangiato da almeno 15 ore hanno una formula leucocitaria che si avvicina sensibilmente a quella considerata normale.

Esiste nel cavallo, quattro ore dopo un pasto copioso una leucocitosi digestiva che si traduce con un aumento quasi del doppio del numero dei leucociti con linfocitosi, eosinofilia marcata, abbassamento del tenore dei polinucleari neutrofili. Questa leucocitosi si accompagna con un leggero aumento del numero dei globuli rossi. I rapporti emoleucocitarii che erano:

$$\text{a digiuno } \frac{\text{G. B.}}{\text{G. R.}} = \frac{1}{2372} \text{ e } \frac{1}{1213}$$

divengono:

$$\text{4 ore dopo il pasto } \frac{\text{G. B.}}{\text{G. R.}} = \frac{1}{1106} \text{ e } \frac{1}{629}$$

Sei ore dopo il pasto la formula leucocitaria dimostra ancora una leggera linfocitosi con abbassamento dei neutrofili, dei grandi mononucleari, degli eosinofili; gli altri elementi si avvicinano molto alla media normale.

La dieta idrica durata due giorni comporta una polinucleosi con eosinofilia.

Il regime esclusivo con avena durante tre giorni, non modifica la formula, almeno in ragione notevole.

Il regime esclusivo con crusca per tre giorni apporta una leggera elevazione del tasso dei linfociti e dei grandi mononucleari con abbassamento corrispondente nel tasso dei neutrofili.

La nutrizione esclusiva con fieno durante tre giorni provoca un aumento molto netto di linfociti con un abbassamento sensibilissimo dei leucociti polinucleari neutrofili e degli eosinofili.

Nella medicina umana è bene conosciuta una leucocitosi delle gravide, che compare negli ultimi mesi della gravidanza e scompare subito dopo il parto e può sottintendere un aumento in leucociti del 50-80 %. Per lo più aumentano proporzionalmente tutte le varie specie di globuli bianchi, compresi gli eosinofili.

Anche in medicina veterinaria è ammessa da Hutyra e Mareck, e da Malkmus una leucocitosi durante la gravidanza. Secondo Storch l'aumento dei leucociti nei cavalli e bovini è però molto lieve. Dalle sue tavole Utendörfer deduce che una leucocitosi pronunciata, durante la gravidanza dei bovini, non si verifica affatto oppure raramente. E' bensì vero, secondo questo autore, che un lieve aumento di globuli bianchi si manifesta, ma ad ogni modo esso, non raggiunge mai le cifre elevate che si verificano nella donna.

Storch nella gravidanza della capra osservò leucopenia, invece Cohstein constatò diminuzione delle emazie, con aumento dei leucociti.

Gscheidlen e Spiegelberg fecero nel cane queste stesse constatazioni.

Jakimoff e Kohl hanno studiato le variazioni che potrebbe subire il sangue dei cavalli, sotto l'influenza della razza e per i leucociti hanno stabilito che questa è negativa rispetto al numero totale di essi. Riguardo alle singole specie hanno osservato che la proporzione dei polinucleari nel puro sangue è più forte che non nelle altre razze, quella dei linfociti è un po' minore; gli eosinofili non hanno una proporzione fissa.

Leucocitosi e leucopenie patologiche.

La maggior parte delle malattie infettive provocano per azione delle tossine batteriche specifiche una leucocitosi neutrofila. Essa è spiccata al massimo nelle suppurazioni di vario genere, negli stati settici e nella polmonite. Ma anche in queste

malattie la leucocitosi può mancare e ciò denota per lo più una prognosi sfavorevole.

Wiendieck nelle sue ricerche sullo stato del sangue nella polmonite essudativa del cavallo, dimostra che esiste una certa concordanza fra estensione dell'essudato e intensità della leucocitosi, la quale si traduce sempre con un grande aumento del numero dei leucociti neutrofili. L'autore ha visto che questa leucocitosi, sopratutto accusata durante lo stato di risoluzione, era preceduta durante il periodo febbrile da una leucopenia.

Anche se manca la leucocitosi in toto, vi è sempre una polinucleosi relativa e una diminuzione dei linfociti. Il numero degli eosinofili è anche molto diminuito.

Meier che ha esaminato il sangue nella pneumonite, pleurite, anemia perniciosa, adenite equina ecc., ha osservato che le cause che aumentano il numero dei neutrofili riducono quello degli eosinofili. Egli considera come prognostico sfavorevole una forte diminuzione dei linfociti.

Friedberger e Fröhner, Meier, osservano nell'adenite equina uno stato prodromico di leucopenia, poi di mano in mano che i gangli si rammolliscono, la leucocitosi si stabilisce e marcia parallelamente alla maturazione dell'ascesso dei gangli, finchè questa si compie.

E' di buona prognosi vedere, dopo l'apertura dell'ascesso, il numero dei leucociti ritornare normale. Se la leucocitosi permane è indizio di focolai latenti o del sopraggiungere di nuovi ingorghi ganglionari. L'assenza di leucocitosi infirma una difficoltà di suppurazione o una evoluzione patologica ritardata.

Goetze ha fatte ricerche ematologiche nella pneumonite infettiva, nell'influenza del cavallo, nella morva, nella linfosarcomatosi, nei catarri gastro-intestinali cronici, nella peritonite, nell'adenite equina. Secondo questo autore più si allontanano dal normale i rapporti fra i varii tipi di leucociti, più infausta è la prognosi. Essa è più particolarmente sfavorevole quando il numero dei neutrofili è elevato, essendo assenti gli eosinofili.

Le piaghe suppurative e flemmonose del cavallo producono secondo Rössle una leucocitosi moderata che si ab-

bassa quando la suppurazione scompare e i leucociti ritornano alla norma nella guarigione. Nei focolai infiammatori circoscritti, fatti di polinucleosi parlano in favore di un ascesso e viceversa.

Le operazioni, in genere, provocano un aumento di leucociti che Rössle attribuisce a fenomeni di riassorbimento a carico della piaga operatoria, piuttosto che all'intervento di agenti infettivi.

Gasse, nelle piaghe della pelle e del tessuto congiuntivo sottocutaneo, in un caso di piaga della cornea, trova gli stessi risultati: i globuli rossi restano nel limite normale, i leucociti sono aumentati. Durante il periodo di riparazione, il numero dei leucociti si abbassa con lievi oscillazioni; nello stesso tempo diminuisce la polinucleosi neutrofila, gli eosinofili, che erano assenti dapprima, aumentano di numero di mano in mano che diminuiscono i neutrofili. I linfociti si comportano come questi ultimi. I grandi mononucleati e i basofili non variano quasi. In un caso di scottatura estremamente estesa dei tegumenti osservò considerevoli modificazioni del sangue. I globuli rossi si elevano il primo giorno a 14.000.000, si abbassano il terzo giorno a 6.700.000. Il numero totale dei leucociti sale il primo giorno da 7.000 a 28.800 e cade il terzo giorno a 3.500. Il numero dei linfociti si eleva a 50-70 °/₀ quello dei neutrofili si eleva da 24 a 36 °/₀.

I grandi mononucleari e le forme di passaggio erano assai accresciuti (13 °/₀ il primo giorno). Eosinofili e basofili mancavano.

In un caso di linfosarcomatosi, lo sviluppo progressivo del tumore negli organi interni è accompagnato da leucocitosi con prevalente polinucleosi.

Negli ascessi, qualunque sia la loro sede, più la raccolta purulenta è abbondante, più il numero assoluto dei leucociti è elevato.

In un caso di un grosso ascesso della groppa il numero dei leucociti raggiungeva 47.700 per millimetro cubico. In seguito ad ogni pulizia dell'ascesso questo numero si abbassava notevolmente, ma aumentava allorchè nuovo pus si raccoglieva. I neutrofili raggiungevano l'80-86 °/₀ durante l'acme della suppurazione, abbassandosi alla norma solo dopo la

guarigione. Linfociti, mononucleati, forme di transizione, eosinofili, restano nei limiti normali.

Gasse ha confermato l'opinione di Friedberger, Fröhner e Meier, che nell'adenite equina una leucocitosi bassa indica suppurazione difficile o lenta evoluzione della malattia. In un caso di adenite egli riscontrò polinucleosi con ipolinfocitosi.

I valori leucocitarî, conclude Gasse, hanno nei processi infiammatori mortali una grande importanza in ciò che concerne il numero assoluto per mmc. come la percentuale delle diverse varietà. La leucocitosi, secondo tale autore, non deve essere considerata come prognostico favorevole. Più importanti ancora sono i valori relativi dei diversi tipi leucocitarii. In molti dei casi dall'autore descritti, si aveva un aumento elevato dei leucociti, senza che la prognosi fosse sfavorevole. Questa lo è quando si constata l'esistenza di un numero totale di leucociti elevato, con polinucleosi accentuata, diminuzione dei leucociti e scomparsa completa degli eosinofili. Quando la percentuale delle diverse specie di leucociti tende a ritornare al normale è un buon indizio, anche se il numero totale dei leucociti rimane alto. Perciò leucocitosi elevata con formula leucocitaria pressochè normale è di buon augurio nella prognosi.

La questione delle cellule basofile, secondo Gasse, rimane tuttora molto imprecisata, per quanto egli pensi che l'aumento dei neutrofili comporti una scomparsa degli eosinofili e basofili.

Franke ritiene che la pneumonite infettiva è per lo più accompagnata da leucocitosi, che raggiunge il massimo al 5° giorno. Pure nella pleurite l'autore constata la leucocitosi: in tre casi mortali questa manca, come pure manca leucopenia.

L'intensità della leucocitosi non è in rapporto stretto colla gravità della malattia, nè colla curva termica. All'aumento dei leucociti prendono parte i neutrofili e le forme di transizione. L'abbassamento dei linfociti non è accentuato; gli eosinofili scompaiono. La leucocitosi è, nella polmonite infettiva e pleurite, secondo Franke, indizio favorevole. La prognosi è riservata nei casi in cui l'esistenza del fenomeno è

contestabile ; è sfavorevole quando non si ha nè leucocitosi, nè leucopenia.

Secondo Gasse nell'influenza la leucocitosi indica l'esistenza di complicazioni, così egli ha osservato per le complicazioni polmonari dell'influenza stessa.

Perciò l'influenza e la polmonite infettiva, che all'inizio hanno sintomi molto vicini, possono essere differenziate dalla formula leucocitaria, ciò si intende, non in senso assoluto. Ossia i valori leucocitari normali parlano per l'influenza, alterati per la polmonite infettiva.

Nell'adenite equina Franke fa le stesse constatazioni di Meier.

Nella suppurazione dei gangli sottomascellari però il numero dei leucociti è più basso che non in quella dei gangli faringei.

Nella febbre petecchiale, il tasso dei globuli bianchi aumenta dapprincipio poi ritorna normale, per risalire ad ogni nuovo accesso. Sembra che in questa forma morbosa la leucocitosi sia di buon augurio.

Un numero normale di leucociti o una leucopenia devono essere considerati come favorevoli nel tetano, al contrario è sfavorevole una leucocitosi anche debole.

Bidault ha studiato sperimentalmente le modificazioni che subisce il sangue circolante del cavallo sotto l'azione di certi medicamenti.

Le iniezioni di arecolina producono una passeggiera eosinofilia. La pilocarpina eleva prima il tasso dei neutrofili e degli eosinofili poi all'aumento di questi si aggiunge quello di mononucleati. L'ioduro di potassio a dosi frazionate provoca leucocitosi con mononucleosi, se sopravviene un avvelenamento da iodismo la leucocitosi scompare, ma ritorna se si sospende la somministrazione di tale sale. Il siero antitetanico produce una polinucleosi molto netta.

Le esperienze colla malleina dimostrano che sotto l'influenza di essa la polinucleosi, alla quale già sono in preda i cavalli morvosi, si esagera raggiungendo considerevoli proporzioni.

Secondo Durroux il lavoro esagerato apporta una leucocitosi spesso molto marcata, con enorme polinucleosi, ab-

bassamento dei linfociti e degli eosinofili, apparizione talvolta di mielociti neutrofili.

Questo autore conferma, con interessanti risultati, i reperti leucocitari ottenuti dai precedenti autori nella adenite equina e nella pleurite.

Quasi sempre subito dopo salassi cospicui compare una leucocitosi postemorragica, che può raggiungere cifre abbastanza alte e scompare di solito dopo uno due giorni (Remak Baldoni ecc.). Evidentemente va ascritta a stimolazione del midollo osseo, stimolazione che dopo emorragie colpisce in modo simile il sistema eritroblastico ed il mieloide.

La reazione iodofila dei leucociti.

Questa reazione può essere osservata soltanto al microscopio e concerne solamente i leucociti a nuclei polimorfi e le piastrine.

Secondo Ehrlich, dei preparati a striscio di sangue, su vetrini lasciati asciugare all'aria, vengono inclusi, per mezzo di una soluzione di iodio e gomma (Iodio puro 1, ioduro di potassio 3, acqua distill. 100, gomma arabica fino a consistenza sciropposa), oppure i preparati asciugati all'aria od umidi (colorazione vitale), vengono introdotti in una piccola cassetta, ove si sprigionano dei vapori di iodio, provenienti da alcuni cristalli di iodio e vengono poi inclusi in levulosio. I preparati umidi si lasciano fino a disseccazione completa. Si vedono allora, se la reazione si effettua, i leucociti e delle volte anche le piastrine, che presentano una colorazione diffusa bruna, oppure dei granuli e dei globuli bruni.

Agli effetti di questa reazione Durroux ha eseguito ricerche minuziose sul sangue di 21 cavalli, di cui noi vogliamo senz'altro riportare i risultati interessanti.

Allo stato normale nessun leucocito si presenta veramente iodofilo, nè osservando preparati secchi montati da un mese, nè quelli ottenuti col metodo vitale. La tinta dei leucociti normale è di un giallo più pallido di quella delle emazie.

Zollikofer e Wolff invece hanno osservato che normalmente i leucociti possono presentare, allo stato vitale,

alcune granulazioni iodofile, che non si rivelano negli strisci secchi trattati con gomma iodata.

I cavalli sani, ma sottomessi a un regime debilitante come la dieta idrica, possono presentare alcuni leucociti a citoplasma d'un giallo bruno, talora anche color mogano: un cavallo su tre ha dato delle sfumature; negli altri tre, nessuna reazione iodofila dei leucociti, ma qua e là, negli ammassi di piastrine, alcuni punti avevano preso questa colorazione.

Sette cavalli furono sottomessi alla dura fatica di percorrere 230 chilometri in sessanta ore: prima di tale sforzo nessuna reazione iodofila in cinque cavalli, dopo essa era ben netta in tutti i casi, su preparati alla gomma iodata, ma di intensità media. Considerando la tinta normale del citoplasma leucocitario colorato dall'iodio corrispondente al giallo limone pallido, l'autore stabilisce una gradazione, che va dal giallo brunastro al marron scuro, con delle sfumature che tendono al rosso, al mogano, fino alla tinta scura vinosa. La colorazione vitale accentua questa tonalità rossastra e dà alla sostanza iodofila un carattere più granulare; questa sostanza occupa il corpo protoplasmatico, mai il nucleo; essa è molto meno condensata in granuli e molto più diffusa nei preparati secchi. Tutti i cavalli intensamente affaticati dalla corsa avevano leucociti, nella proporzione di uno a dieci, in cui la reazione iodofila confinava colla tinta mogano.

Altrettanto intensa appare questa colorazione nei cavalli infetti. Un cavallo coperto da escare in seguito alla frattura della colonna vertebrale, ne presenta in modo notevole.

L'adenite equina provoca una iodofilia molto intensa. Quasi tutti i leucociti polinucleati neutrofili vanno soggetti alla reazione, e la metà fra essi assume tinta marron scura, con striature brune, dense e radiate nel protoplasma.

Durroux, in breve, ha votuto osservare tutta la gamma dell'iodofilia nel cavallo; essa va crescendo e rinforzandosi nelle oscillazioni dell'equilibrio fisiologico più o meno rotto dal digiuno, dalla dieta idrica, e dalla fatica esagerata fino alle turbe patologiche le più caratteristiche. Sembra che l'intensità della reazione su preparati secchi, nel cavallo, in preda a stati tonici od infettivi, dia la misura dello stato morboso.

La reazione scompare colla guarigione.

Questi risultati del Durroux concordano con quanto è noto sul valore semiologico della reazione iodofila in patologia umaua, quando essa si manifesta nettamente, non solamente colla colorazione vitale, ma anche negli strisci a secco. Altrettanto è da ritenersi logicamente per la patologia bovina.

Essa è sopratutto indice di infezione, di setticemia o di suppurazione.

Durroux ritiene che questa reazione potrà eventualmente mettere sulla via di pneumonite catarrale, di una raccolta purulenta nascosta o dubbia, di un ascesso del fegato ad esempio; orientare la diagnosi nei casi in cui la tubercolosi, la litiasi renale o epatica siano in discussione; essa accusa l'osteomielite acuta, l'infezione puerperale, e gli accidenti infettivi post-operatorii in atto.

D'altronde questa reazione rappresenta, qualunque sia la natura della sostanza che si lascia colorare dall'iodio, glicogena, amiloide od altra, qualunque sia l'essenza del fenomeno, esagerazione di una proprietà normale dei leucociti o indice di malattia, rappresenta la sensibilizzazione di certi leucociti di fronte a prodotti tossici o infettivi e ciò a gradi diversi, secondo la quantità e la qualità degli agenti nocivi.

Da ciò l'alto interesse che può sottintendere tanto nelle ricerche cliniche per l'uomo, che per gli animali.

Il Durroux che, per primo, ha applicato alla patologia equina questa indagine, ritiene che sia destinata a fornire utili apprezzamenti nella diagnosi e nella prognosi.

PIASTRINE O EMATOBLASTI

Le piastrine o ematoblasti sono dischetti incolori, rotondeggianti, di 2-4 μ di diametro che si osservano nel sangue in gran numero (secondo Durroux sono nel cavallo normale in numero 73.093 per mmc.).

Esse possono essere riconosciute non difficilmente nei preparati a fresco e diventano più evidenti se si colorano con acido osmico deponendo una goccia di soluzione a 1 % di questo acido nel punto dove si vorrà poi praticare la puntura.

Nei preparati colorati esse assumono i colori nucleari. L'origine e il significato fisiologico delle piastrine non è ancora chiaro.

Esse prendono una parte molto importante nella coagulazione del sangue e nella formazione dei trombi, come si può riconoscere dai rapporti che esse prendono coi fili di fibrina, che si osservano nei preparati di sangue a fresco.

Nell'anemia perniciosa, in cui il sangue coagula difficilmente, il numero delle piastrine è diminuito, mentre nelle leucemie sarebbe aumentato (Schmidt).

« Ma la clinica, giustamente afferma il Marcone, non ancora si giova con sicurezza delle modificazioni cui vanno soggetti questi elementi tanto vulnerabili. Gli ematoblasti diminuiscono nel digiuno prolungato, nella inanizione, negli stati febbrili, anemici, cachettici; aumentano nelle gravide (Halle) e negli stati di reintegrazione del sangue (Afanassiev) ».

PARTE SESTA

Semeiotica ematologica delle principali malattie del sangue

Anemia.

L'anemia (oligoemia) è una sindrome. Di solito essa, qualunque siano la sua origine e le sue cause, che possono essere svariatissime, è caratterizzata specialmente dalla diminuzione quantitativa dell'emoglobina e per lo più anche dei globuli rossi.

Il termine anemia, assenza di sangue, non è invero molto appropriato a designare questa sindrome tanto frequente, però ormai esso è stato così universalmente accolto ed è così abitualmente usato, che è inutile volerlo sostituire con espressioni più esatte, come ad esempio « oligocromemia », « oligocitemia », « oligocromocitemia », ecc.

Dal gruppo delle anemie bisogna distinguere le sindromi anemiche secondarie dalle primarie o idiopatiche. Tra le idiopatiche fin'oggi si conosce una sola entità: la tifo-anemia infettiva del cavallo.

Tutte le altre sono secondarie, e se ne possono distinguere tre varietà fondamentali: le *post-emorragiche* (in seguito ad emorragie interne od esterne dell'organismo, ecc.), *da cause prevalentemente emolitiche* (tossine e veleni emolitici, piroplasmosi, tripanosi, elminti, certe neoplase, ecc.); *da deficiente ematopoiesi* (mielopatie, stati cachettici, nel decorso di infezioni ed intossicazioni acute o croniche, nei tumori maligni, ecc.).

Nelle anemie le alterazioni del sangue sono sempre complesse.

Il sangue anemico all'esame fisico si presenta di colorito più pallido del normale, acquoso, colora scarsamente gli oggetti cui va a contatto, coagula più lentamente del normale ed il coagulo è meno consistente, più gelatinoso, più friabile.

In realtà il carattere fondamentale e costante di tutte le anemie è la diminuzione dell'emoglobina, il tasso di emoglobina si abbassa sotto il 70 °/₀, nei casi gravi raggiunge il 40 °/₀, il 30 °/₀.

Il peso specifico del sangue è più o meno considerevolmente abbassato.

Postnikows ha riscontrato nell'anemia del cavallo un peso specifico di 1029,8.

In riguardo al peso specifico ed al tasso in emoglobina del sangue Bonard afferma che essi raggiungono le cifre più basse, in modo rimarchevolmente parallelo, nei casi di anemia e nei casi di febbre petecchiale più che in ogni altro caso patologico.

Le cifre, a partire dalle quali, secondo tale autore, bisogna considerare i cavalli come anemici sono:

	densità	emometro di Sahli
per i cavalli di razza comune	1040	40
» di mezzo sangue	1050	50

Difatti egli osservò sei casi di anemia e trovò per ciascuno di essi una densità di 1029-1032 e un tasso di emoglobina di 27-30. Il giorno della morte di uno di questi cavalli ottenne all'emodensimetro 1031, all'emometro 27. Il numero delle emazie era di 3.500.000 per mm³ e di 3500 di leucociti. Queste cifre non debbono essere considerate come limiti inferiori, perchè in un altro caso osservò:

densità	1.030
emometro	29
emazie	2.400.000

In seguito ad una energica cura in capo ad un mese il cavallo assai migliorato nelle sue condizioni di salute presentava:

densità . . .	1,048
emometro . . .	50
emazie . . .	5.690.000

L'oligocromoemia dunque quasi sempre si accompagna all'ipoglobulia, solo in casi rari e di lieve entità questa non si osserva. Invece il numero dei globuli rossi può diminuire anche assai considerevolmente e scendere sino a 3-2.000.000 per ogni mmc. e, secondo quanto riferiscono Friedberger e Fröhner, giungere ad abbassarsi fino a mezzo milione.

Nelle forme gravi si osserva inoltre la poichilocitosi e l'anisocitosi; i corpuscoli rossi sono perciò più piccoli o più grossi del normale, poligonali od allungati, provvisti di prolungamenti a forma di clava, di biscotto, di pera, di incudine, di cuneo, ecc.

Specialmente nell' anemia a decorso acuto o subacuto, non è raro constatare nei preparati colorati, dei globuli rossi nucleati (eritroblasti), oppure delle emazie che contengono delle granulazioni basofile, che rappresentano i detriti dei disciolti nuclei degli eritroblasti (Hutyra e Marek).

Il numero dei leucociti è per lo più accresciuto e sono i polinucleari che hanno aumentato la loro proporzione (in un caso Hutyra e Marek contarono 180.000 globuli bianchi per ogni millimetro cubico di sangue).

Essendo dunque diminuito il numero dei globuli rossi ed aumentato il numero dei leucociti, il rapporto fra questi e le emazie è assai più stretto del normale. Questo rapporto può allontanarsi talmente da quello fisiologico, che in un esame a fresco del sangue, può nascere a prima vista il dubbio, che si tratti di uno stato leucemico.

Le alterazioni del sangue anemico, alle quali abbiamo accennato, si accompagnano a modificazioni quantitative e qualitative degli altri elementi chimici del liquido sanguigno.

Wetzl mette in guardia di fronte al giudizio del reperto ematologico dedotto dalle indagini cliniche sul sangue. Poichè i metodi clinici di esame del sangue, egli osserva, forniscono dei

dati solo relativi ad un dato volume, non è sempre possibile precisare il grado di anemia in base al conteggio dei globuli rossi od alla determinazione del contenuto emoglobinico. Così i dati accennati possono essere normali, malgrado l'esistenza dell'anemia, segnatamente nei casi — benchè ciò si verifichi per eccezione — d'oligoemia, senza alterazione qualitativa della composizione del sangue, come pure in tutti i casi di anemia, in cui per ingente perdita di acqua o per mancata ingestione di questa, si è determinata una concentrazione del sangue (Hutyra e Marek).

Ad ogni modo il reperto ematico fornirà sempre un elemento di giudizio utile a valutare la gravità e il decorso dell'anemia.

Tifo-anemia infettiva del cavallo.

Ricordiamo in questo paragrafo le variazioni che subisce il sangue nella tifo-anemia del cavallo che è una speciale malattia a decorso acuto, sub-acuto o cronico sostenuta da un virus filtrabile invisibile e incoltivabile (virus di Carré Vallée) e caratterizzata da una rapida, enorme e progressiva distruzione dei globuli rossi.

Il reperto ematico varia alquanto nelle singole forme cliniche della malattia e lo riferiamo desumendolo dai dati riscontrati appunto secondo il decorso stesso della malattia.

Reperto ematologico nella forma acuta. — Lo stato acuto della malattia corrisponde ad una distruzione globulare intensa e rapida. Questo fenomeno si palesa facilmente dai cangiamenti fisici, chimici e microscopici che presenta il sangue. La sua colorazione è rosso scura, la coagulazione si compie rapidamente ma incompletamente; il coagulo fibrinoso predomina; esso offre una tinta giallastra molto marcata e conserva, per parecchie ore, l'aspetto di una gelatina tremolante (Delafond); il coagulo nero è un po' abbondante e sempre deliquescente.

Se si lasciano cadere alcune goccie di questo sangue su una superficie liscia, bianco-opaca, si constata una rapida separazione delle emazie che si agglutinano in piccoli con-

glomerati, di tinta rosso-bruna, in mezzo a un plasma assai colorato e frequentemente opalescente (emoagglutinazione).

Il sangue contiene più siero e meno globuli rossi che non allo stato normale. Il siero che si separa appare di color giallo-scuro oppure verdastro. L'abbassamento del tasso dei globuli rossi si verifica più o meno a seconda della gravità della malattia ma già dopo 10-15 giorni il numero delle emazie è caduto sotto la media normale anche di un milione e mezzo o due; avvicinandosi la morte dell'animale la cifra complessiva dei globuli rossi può non raggiunger neppur più i quattro milioni. Charron ha visto l'ipoglobulia scendere fino a 1.800.000. Carré e Vallée osservarono che nell'animale per lo più l'impoverimento in emazie è mascherato dallo stato tifoso delle mucose. Nello stabilire il numero relativo dei corpuscoli rossi va tenuto conto che esso è in rapporto anche al contenuto acquoso del sangue così, malgrado la notevole diminuzione della quantità assoluta dei corpuscoli rossi, si verificano a tale riguardo delle non insignificanti oscillazioni.

Anche il peso specifico è di solito notevolmente più basso del normale (vedi pag. 15), come lo è il contenuto in emoglobina del sangue (Kinsley).

Zschokke e Ostertag hanno voluto servirsi del metodo della sedimentazione del sangue (cfr. pag. 31) onde ottenere approssimativamente un concetto informativo sul contenuto in globuli rossi del sangue di cavalli affetti da anemia infettiva, ma il metodo non può fornire un indirizzo sicuro nella diagnosi.

All'esame microscopico i globuli rossi nei preparati a fresco presentano una agglutinazione facile e rapida e si mostrano molto poveri in emoglobina. Nei preparati a secco risaltano evidenti i fatti di anisocitosi (macrociti e microciti) e di poichilocitosi (Baruchello). Karynitz aveva anzi proposto di considerare la poichilocitosi come un mezzo di diagnosi dell'anemia infettiva. A questo proposito però Hutyra, Marek e Finzi fanno osservare che in molti stati patologici e più specialmente nelle forme di anemia, in certe forme di intossicazione, i globuli rossi che sono meno resistenti perdono facilmente la loro forma per presentare gli aspetti i più diversi. Anche Schlatholter nega la poichilocitosi

nell'anemia infettiva del cavallo come un elemento sicuro di diagnosi.

Nelle forme gravi si possono trovare dei tipi nucleati di globuli rossi oppure delle emazie con granulazioni basofile (frammenti di nucleo). Questi globuli detti punteggiati rivelano corpuscoli che fissano i colori basici e che per forma, dimensioni e colore sono paragonabili a parassiti endoglobulari; questo fatto è in analogia a quanto si riscontra frequentemente nei gravi stati anemici dell'uomo. Ostertag però non ammette come costante la presenza di emazie punteggiate.

I globuli rossi non sono solamente alterati, ma anche facilmente alterabili come già abbiamo detto; essi non resistono nè al siero normale del coniglio e del cavallo, nè alle soluzioni saline che lasciano intatti i globuli normali, in una parola la resistenza dei globuli rossi è di molto diminuita di fronte a cause di distruzione, che rimangono inattive sulle emazie della animali sani (Carré e Vallée, Cadéac).

Per quanto riguarda il modo di comportarsi dei globuli bianchi, nella forma acuta di questa malattia, si osserva generalmente una leggera leucopenia. Il numero dei leucociti oscilla fra 7000 e 7500 in luogo di 9000, cifra normale; ma vi è sempre una polinucleosi piuttosto marcata, i polinucleati rappresentano il 75-90 % della cifra totale dei leucociti (Carré e Vallée, Marek, Francis e Marteller).

Il Finzi in base a ricerche sperimentali compiute sulla anemia perniciosa ritiene che la formula leucocitaria non ha un significato regolare, essa varia secondo le reazioni termiche dell'animale. Quando la temperatura si mantiene vicina alla normale, la formula leucocitaria non ha variazioni notevoli, invece durante gli sbalzi termici l'autore ha constatata una mononucleosi, con diminuzione sensibile degli eosinofili. Quest'ultima però non ha, secondo il Finzi, valore diagnostico nell'anemia infettiva del cavallo perchè comune a tutte le infezioni a reazione leucocitaria, può avere invece una certa importanza dal punto di vista prognostico; difatti, egli osservò, che gli eosinofili diminuiscono durante la fase acuta dell'infezione, per ritornare normali durante i periodi di remittenza o di convalescenza, se l'espressione può essere

concessa. Finzi crede quindi che la persistenza degli eosinofili durante la malattia è indice di una infezione benigna.

Reperto ematologico nella forma sub-acuta e cronica. — Il quadro clinico ed anatomo-patologico nell'anemia infettiva del cavallo, a decorso sub acuto o cronico, e che riflettono essenzialmente le alterazioni del sangue sono tali che assumono un significato patognomonico anche all'iniziarsi della malattia. Il sangue è di un colore rosso-chiaro, se imbratta le mani di chi lo preleva o un foglio di carta bianca, li tinge di un rosa pallido. Raccolto in una provetta, la coagulazione si compie rapidamente; la parte normalmente bianca del coagulo, offre un colore giallastro, rimane molto tempo allo stato gelatinoso e comprende più dei due terzi della colonna sanguigna; la parte nera del coagulo è meno considerevole e di minor consistenza della norma (Delafond). I globuli rossi sono fragili, poveri in emoglobina e possono dimostrare le anomalie sempre in modo assai meno grave alle quali più sopra abbiamo accennato.

Il loro numero comincia presto a diminuire e ad abbassarsi al di sotto della cifra fisiologica. Le accennate modificazioni fisiche, chimiche e morfologiche del sangue che soprassiedono a tutte le manifestazioni sintomatiche della malattia, hanno una progressione lenta, ma costante fino a raggiungere entità veramente gravi.

Così la fluidezza del sangue può raggiungere un grado tale, che raccolto esso in una provetta, la parte sierosa può costituire oltre i due terzi della colonna sanguigna in toto. L'ipoglobulia può diminuire e abbassarsi fino a 2.000.000 o 2.500.000 nella forma sub-acuta, può invece variare da 2.000.000 a 4.000.000 nelle forme croniche.

Certamente il numero dei globuli rossi oscilla non lievemente a seconda dell'alternarsi dei periodi di miglioramento coi periodi di aggravamento del processo, e la diminuzione dei corpuscoli stessi può, a stadio molto inoltrato, osservarsi solo in piccola misura (Hutyra e Marek).

Riguardo al comportamento dei leucociti durante il decorso cronico dell'anemia infettiva del cavallo, si osservano percentuali sensibilmente eguali di leucociti mononucleari e

polinucleari, mentre che questi ultimi predominano nella forma acuta.

Per quanto riguarda la diagnosi clinica della tifo-anemia del cavallo basata su ricerche ematologiche, oltre il metodo della sedimentazione al quale abbiamo già accennato, ne ricordiamo un altro.

Finzi, partendo dall'osservazione di Carré e Vallée, secondo la quale i globuli rossi dei cavalli affetti da anemia infettiva offrono minor resistenza agli agenti emolitici in confronto alle emazie dei cavalli sani, ha riscontrato la presenza nel siero degli ammalati di tifo-anemia (infezione spontanea o sperimentale) di isolisine e di autolisine; il siero quindi di cavalli affetti da anemia spiega azione emolitica verso i globuli dei cavalli sani. La ricerca di questo potere emolitico può, dunque, secondo Finzi, dal punto di vista della diagnosi, fornire alla clinica, dei dati interessanti.

Anemia perniciosa progressiva.

Intendiamo menzionare in questo paragrafo il reperto ematologico che si riscontra in tutte quelle malattie, ad etiologia la più varia, durante il decorso delle quali si presenta, come sindrome, una anemia ad evoluzione fatalmente progressiva, che noi oggi non possiamo più ritenere come entità morbosa a sè, ma invece come l'espressione di cause le più diverse, le quali hanno per effetto di ledere gravemente l'equilibrio fisiologico e l'attività funzionale del sangue o degli organi ematopoietici. L'anemia perniciosa progressiva del cavallo e del bue, astrazione fatta per la forma già ricordata, sostenuta nel cavallo dal *virus* di Carré e Vallée, non la consideriamo dunque secondo il concetto dei vecchi autori come una malattia, ma come un sintomo, che può accompagnare molte infezioni, o infestazioni o intossicazioni, ecc.

Per ciò che si riferisce al quadro ematico di essa ci atteniamo a quanto riferiscono Hutyra e Marek, ritenendo con loro però che essa non sia affatto frequente nei cavalli e nei bovini. Tali autori si attengono molto nel descrivere un tale quadro a quanto si riscontra nell'anemia perniciosa dell'uomo.

Secondo essi « il sangue presenta una tinta rosso chiara, talvolta con tendenza al giallastro, il suo peso specifico ed il suo contenuto emoglobinico sono inferiori alla norma. Negli uomini affetti da anemia perniciosa si constatò sempre il contenuto emoglobinico alto in proporzione del numero dei corpuscoli. Il numero dei globuli rossi scema considerevolmente e nel medesimo tempo i globuli stessi si presentano alterati nella forma.

E' notevole anzitutto il fatto che le dimensioni dei globuli non siano uguali, cioè mentre alcuni sono di diametro rilevante (macrociti, gigantociti), altri presentano un diametro assai minore di quello degli eritociti del sangue normale (microciti); i primi sono inoltre di sovente molto pallidi, gli ultimi invece di color giallo-rosso intenso; di più si scorgono in modo vario dei globuli rossi nucleati (eritroblasti). Essi non si riuniscono in gruppo disposti a guisa di un rotolo di monete, ed alcuni appaiono alterati in modo particolare, e cioè angolosi, allungati, provvisti di uno o più prolungamenti, a forma di clava o di biscotto e talora anche completamente raggrinzati (poichilocitosi). Friedberger osservò in un caso, oltre alla poichilocitosi, aumento dei leucociti e delle piastrine. Inoltre nel sangue di uomini affetti da questa forma di anemia si trovano talvolta dei globuli rossi nucleati il cui diametro può misurare fino a 20 μ; alla presenza di questi eritrociti Ehrlich assegnò un grande valore diagnostico; ciò però venne contrastato da alcuni autori. Poichè tra anemia perniciosa dell'uomo e quella degli animali non c'è, in riguardo al reperto ematologico, alcuna notevole differenza, nella diagnosi dell'anemia perniciosa degli animali si deve dare maggior importanza alla presenza dei gigantociti o gigantoblasti ed al rapporto tra tasso emoglobinico del sangue e numero delle emazie ».

Friedberger e Frhöner nel reperto di anemia perniciosa progressiva del cavallo, constatarono considerevole diminuzione degli eritrociti (fino ad 1.000.000) e conseguente notevole abbassamento del tasso emoglobinico e diminuzione pure assai evidente nel numero dei leucociti. Meier trovava nella stessa manifestazione morbosa un relativo aumento di mononucleari e forme di transizione e lo interpretava come

indizio di favorevole reazione dell'organismo. Per gli eritrociti constatava la comparsa di forme patologiche (macro, micro, poichilociti).

Leucemie e pseudoleucemie.

L'esame del sangue può da solo bastare a formulare la diagnosi di leucemia nella grande maggioranza dei casi, negli altri costituirà sempre un validissimo coefficiente.

Non ci soffermiamo sulle varie classificazioni nè sulle ipotesi e considerazioni avanzate dai diversi autori per spiegare la natura delle leucemie perchè questo non è compito nostro.

Le modificazioni quantitative e qualitative dei globuli bianchi sono della massima importanza per riconoscere la leucemia; soltanto in base ad esse è possibile una diagnosi sicura della forma di malattia della quale si tratta in ogni singolo caso.

Le leucemie si presentano assai rare nella specie equina, un po' più frequenti in quella bovina. E' bene ricordare che la leucemia mieloide in medicina veterinaria è da considerarsi eccezionale e nella letteratura ne è fatto cenno dal Cadéac e dal Moussu, mentre Hutyra e Marek per la mancanza di osservazioni positive, solo in base al comportamento perfettamente eguale dei globuli bianchi dei mammiferi e di quelli dell'uomo suppongono che anche nella leucemia mielogena degli animali il quadro ematico sia identico a quello dell'uomo. Nepure Finzi nella sua traduzione del trattato di Friedberger e Fröhner ricorda casi di linfocitemia nei cavalli e bovini.

Leucemia linfoadenoide.

Il sangue degli animali leucemici raccolto mediante salasso, si mostra pallido, scolorato, la sua tinta è rosso-pallida, talora bruno-cioccolatta, il suo potere colorante è sensibilmente diminuito, è più fluido del normale, la coagulazione si compie lentamente e la coagulabilità è diminuita. Il sangue dei cavalli leucemici dà un coagulo costituito da tre parti:

una inferiore, rossa-violacea, formata dall'accumulo dei globuli rossi, una superiore di colore giallastro e dotato di lieve trasparenza ed una mediana di color grigio-biancastro, formato dai globuli bianchi; quest'ultima è più o meno abbondante a seconda dell'entità della malattia. Il sangue leucemico dei bovini, coagulando, si suddivide in due strati, dei quali l'inferiore, di color violetto, è formato dai corpuscoli rossi, il superiore di color grigio-biancastro e d'aspetto lattiginoso, è formato dalla fibrina e dai corpuscoli bianchi.

Il liquido sanguigno si impoverisce in albumina; la sua alcalinità è diminuita; esso è ricco in peptoni, ciò che spiega la sua debole tendenza alla coagulazione. La sua proporzione d'acqua aumenta, essa può raggiungere l'833, l'850 e perfino anche l'881 p. 1000 (Cadéac).

La fibrina è talora diminuita, talora aumentata del doppio od anche del triplo.

I globuli rossi sono sempre meno numerosi che allo stato normale; la leucemia si accompagna sempre all'anemia più o meno intensa. Il numero dei globuli rossi può discendere da 7.500.000 a 2.000.000 per millimetro cubico (Nocard, Finzi). Le emazie sono frequentemente alterate, può riscontrarsi poichilocitosi, anisocitosi, policromatofilia, e globuli a sostanza granulo-reticolo-filamentosa (Finzi); si possono riscontrare anche globuli rossi nucleati e vacuolati, quando anche il midollo osseo è interessato (Cadéac).

Il numero dei leucociti aumenta considerevolmente. Mentre nel campo microscopico offerto da un preparato di sangue normale, si osservano al massimo 4-6 globuli bianchi, nel sangue leucemico questi sono assai più numerosi e talvolta in numero uguale o quasi a quello dei globuli rossi, perciò è assai facile anche ad un semplice esame a fresco rendersi conto dell'alterato equilibrio dei globuli sanguigni. Procedendo al conteggio dei leucociti è facile rendersi conto esatto dell'avvenuto aumento. Il numero di questi globuli che normalmente non sorpassa le cifre di 7000-8000-12.000 per millimetro cubico, si eleva facilmente al disopra di 500.000 (Cadéac). È facile comprendere che allora il rapporto numerico tra i globuli bianchi ed i globuli rossi si sposta di molto. Difatti mentre nelle condizioni fisiologiche tale rapporto è 1:400 - 1:800 di

viene assai più stretto nelle leucemie, dove può presentarsi persino di 1:5 (Berndt) o di 1:3 e di 1:2 (Moussu). Il numero così notevolmente aumentato dei leucociti nella leucemia linfoadenoide è dovuto all'accresciuto tasso di linfociti, mentre il quantitativo degli altri leucociti quasi sempre si conserva normale o quasi normale. Il Finzi pure riscontrò l'aumento dei linfociti a spese degli altri globuli bianchi, avendo notato una evidente diminuzione nella percentuale dei polinucleari.

Lo stesso carattere rilevò lo Scotti in caso di leucemia linfoadenoide della vacca.

Il carattere essenziale dunque della leucemia linfoadenoide è l'aumento assoluto dei linfociti ed anche dei grandi mononucleari.

Secondo Finzi il siero non contiene isoagglutinine, perchè mancano fatti di autoemoagglutinazione.

Leucemia mielogena. — L'esame ematologico è caratteristico anche in questa forma ove non solamente esiste una leucocitosi eccessiva, ma formata in gran parte da cellule che non si trovano normalmente nel sangue. Tutti i tipi leucocitarii possibili, normali e anormali, vi sono rappresentati. Oltre ai polinucleari del sangue normale, si trovano dei mononucleari granulosi, che non sono altro che le cellule madri dei primi.

I polinucleari neutrofili sono notevolmente aumentati in senso assoluto, per quanto la loro proporzione sia diminuita, essi solo eccezionalmente hanno il tipo adulto, con nucleo ben colorato suddiviso in 3-4 lobi; molti non sono che forme di transizione, difficili a distinguersi dai mononucleari granulosi. Le granulazioni neutrofile possono essere normali; oppure diminuite o aumentate, più grosse o più piccole, colorate in senso anormale.

I polinucleari eosinofili sono in aumento assoluto e relativo, anch'essi, come le loro granulazioni si presentano per lo più differenziate dal normale.

Anche le mastcellule sono enormemente aumentate in senso assoluto, considerevolmente in senso relativo.

I mielociti neutrofili sono naturalmente i più numerosi. Si presentano in diverse misure grossi, piccoli e medii, hanno

nucleo arrotondato od ovale, che si colora debolmente nei primi e intensamente negli altri. Le granulazioni sono scarse.

I mielociti eosinofili e basofili si presentano in minor numero.

I primi hanno analoghe variazioni di taglia e d'aspetto dei neutrofili.

I leucociti mononucleari sono pure aumentati nel loro numero totale, mentre sono diminuiti in senso relativo.

Riguardo ai globuli rossi, essi sono per lo più diminuiti, e si possono osservare dei fenomeni anemici più o meno accentuati.

Pseudoleucemie. — Sotto il nome di pseudoleucemie, si designano delle affezioni caratterizzate da una iperplasia degli organi linfo-ematopoietici del tutto simile a quella che si osserva nella leucemia, colla differenza però che manca lo stato leucemico del sangue.

La pseudoleucemia è stata riscontrata tanto nella specie equina che in quella bovina, in quest'ultima con maggiore frequenza che non le altre forme di leucemia.

Per quanto riguarda il reperto ematico questa forma morbosa non presenta nulla d'interessante. Per lo più si constata una grave anemia, mentre il rapporto fra globuli rossi e globuli bianchi non è mai profondamente modificato; talora si osservano dei fatti di poichilocitosi. I linfociti, benchè il numero complessivo dei globuli bianchi si conservi pressochè normale, possono però trovarsi nel sangue più numerosi che di norma (Zimmermann).

Degener, ad esempio, in un caso di pseudoleucemia in un cavallo mentre ad un primo esame ematologico riteneva di aver riscontrato un numero aumentato di globuli bianchi; in una seconda numerazione, esatta, constatò 6.000.000 di emazie e 3.300 globuli bianchi; ossia cifra quasi normale per le prime e diminuiti di metà circa per i secondi.

*
* *

Non facciamo cenno di quelle che sono le malattie sistematizzate del tessuto linfatico o neoplasie di esso (linfocitomatosi, linfogranulomatosi) diffusamente studiate in medicina

umana, ove pure il reperto ematico è stato illustrato, secondo la sua importanza. Nella patologia del cavallo e del bue sono tuttora troppo limitate le osservazioni in questo campo.

Per la stessa ragione, non consideriamo neppure i processi neoformati degli altri organi ematopoietici (splenomegalia, ecc..)

Emoglobinemia.

L'emoglobinemia può essere sindrome di svariatissime malattie generali o del sangue e può rispondere a parassiti del sangue (piroplasmi, tripanosomi), a sostanze chimiche, a tossine, a veleni emolitici, ecc., cause tutte capaci di distruggere i globuli rossi e metterne quindi in libertà l'emoglobina.

Questo sintomo del sangue dunque si presenta colle stesse alterazioni che si osservano nella anemia acuta (v. pag. 177). Inoltre il siero del sangue contiene emoglobina per cui appare più o meno colorato in rossastro; nei casi molto gravi il sangue può, in principio presentarsi ancora più scuro del normale, nell'ulteriore decorso però il sangue stesso, per la notevole perdita della emoglobina, assume una colorazione più chiara.

La coagulazione del sangue è più rapida talvolta e la coagulabilità più intensa, forse in seguito alla contemporanea distruzione dei globuli bianchi.

PARTE SETTIMA.

Alterazioni sintomatologiche del sangue

Reperto ematologico in diverse forme morbose.

Trattandosi esclusivamente di apportare in questa parte speciale del lavoro i dati che riflettono le alterazioni e le lesioni del sangue, nelle principali malattie, non abbiamo potuto, o meglio non abbiamo ritenuto opportuno, seguire quell'ordine cronologico, più teorico che pratico, che nei trattati più accreditati di patologia veterinaria ci è dato osservare. Così abbiamo ricordate le diverse malattie, seguendo concetti essenzialmente rivolti al solo « reperto ematologico » per riassumere quei dati che sono, secondo noi, la sintesi, il riassunto, il complemento naturale, certo non inutile, delle singole parti prima trattate.

Tubercolosi.

I diversi autori che rivolsero la loro attenzione a studii ematologici in questa malattia non si preoccuparono delle diverse forme cliniche che essa può assumere. Se nei nostri animali noi osservassimo un decorso uniforme e costante, quale si può dire ci presenta la cavia, allora il reperto ematico potrebbe realmente assurgere ad una certa importanza diagnostica. Invece basti considerare le multiformi espressioni cliniche che la malattia può presentare, specialmente nei bovini, per comprendere come in ciascuna di esse il sangue nella sua costituzione anatomica e fisiologica può essere di-

versamente influenzato. Così il reperto ematico si differenzierà a seconda che la forma è acuta o cronica, che la localizzazione specifica è a carico delle sierose o degli organi parenchimatosi, che le lesioni siano calcificate o caseoso-fluidificate, ecc.

All'esame del comportamento leucocitario in questa malattia non si desumono, secondo Goetze, dati sufficienti per portare un contributo valido alla diagnosi clinica della malattia stessa.

Utendörfer studiò il reperto ematico nell'infezione sperimentale dei bovini. Questo autore inoculava sottocute alla base del collo di bovini del materiale tubercolotico fresco. Per alcuni si serviva di una emulsione di noduli perlacei prelevati dal peritoneo di un bovino morto di tubercolosi naturale, per altri di una emulsione di gangli bronchiali e portali di cavia infettata sperimentalmente. Osservava subito dopo l'iniezione un aumento notevole dei leucociti, aumento che aveva il suo massimo 12-14 ore dall'inoculazione fatta, di poi la leucocitosi diminuiva progressivamente fino alla morte, trasformandosi nel periodo agonico in una leucopenia che sottintendeva una diminuzione dei leucociti fino alla metà delle cifre normali. L'autore con ragione interpretava il primo aumento come una reazione valida dell'organismo nella lotta contro l'agente dannoso, il virus tubercolare. Riteneva invece la ipoleucocitosi da attribuirsi al sopravvento di fronte alla difesa dell'organismo stesso, delle tossine prevalenti nel sangue circolante.

Utendörfer eseguì inoltre ricerche molto interessanti, per stabilire l'effetto, dell'inoculazione di tubercolina ai bovini, sulle eventuali variazioni del sangue. I risultati ottenuti gli fecero constatare che negli animali sani la tubercolina produce sempre una leucocitosi, mentre negli animali tubercolotici non si osserva modificazione alcuna dei leucociti stessi. Secondo l'opinione di Utendörfer negli animali sani verrebbe sciolta la molecola albuminica della tubercolina, che ecciterebbe l'iperproduzione di leucociti, mentre questo fatto non si verifica nell'organismo dei bovini tubercolotici, ove si ha una continua emissione in circolo di tossine tubercolari, per cui esso è abituato all'effetto nocivo di esse.

Non abbiamo elementi per giudicare dell'esattezza di questo concetto dell'Utendörfer, certo però se può essere preso in considerazione per spiegare l'effetto, nel reperto ematico, della tubercolina, non ha nulla a che vedere con quella che è interpretazione della reazione tubercolinica nel bovino ammalato, recentemente emessa dal Finzi.

La reazione antitriptica del siero di sangue, secondo le ricerche di Finzi non avvantaggia la diagnosi di tubercolosi dei bovini, perchè in questi anche nelle enteriti croniche si osserva un abbassamento. Studiando il potere emolitico (isolisine ed eterolisine) del medesimo siero, lo stesso autore, conclude che le variazioni di esso non forniscono dati utili alla clinica.

Le isolisine, risultati positivi avevano ottenuto per l'uomo Weimberg e Mello, negativi per i bovini Mello, furono dall'autore riscontrate nel siero di bovini tubercolotici 4 volte su 37, ma in opposizione all'opinione dei surriferiti autori, Finzi ritiene che non siano in rapporto colla gravità delle lesioni. Le eterolisine esistono costanti per le emazie di coniglio, frequenti per quelle di cavallo.

Della batteriemia tubercolare si è detto a pagina 74.

Morva.

L'iperleucocitosi nel cavallo morvoso è ricordata da parecchi autori (Kitt, Nocard e Leclaiuche, Colin e Delafond).

Malassez constatò notevoli modificazioni nel sangue del cavallo affetto da questa malattia, fra cui principalmente una leucocitosi intensa accompagnata da diminuzione del numero degli eritrociti. Modificazioni a carico dei globuli rossi sono state osservate anche da Mikroukow. La leucocitosi fu costantemente trovata anche da Goetze, la quale, secondo questi, accompagnata da fenomeni di agglutinazione, ha significato diagnostico positivo anche quando mancano sintomi clinici della malattia, al contrario non ha valore diagnostico l'agglutinazione non accompagnata da leucocitosi. A riguardo di questa affermazione del Goetze, osserviamo solo che oggi pecca di eccessivo assolutismo, conoscendo la fre-

quenza colla quale una leucocitosi accompagna le più svariate forme morbose.

Fröhner ha pure constatata una leucocitosi considerevole e dichiara che questa constatazione deve avere un significato diagnostico importante. Bidault nella morva cronica, e in un caso, nella forma acuta osservò leucocitosi con accentuata prevalenza dei polinucleari a spese dei mononucleari.

Ad identiche constatazioni giunsero Kikrukow, Schindelka, Prüs, Noniewicz, Cristot e Kiener.

Macchia in seguito alle sue osservazioni su sangue di cavalli morvosi, conclude negando la leucocitosi nella morva cronica, ammettendola invece pronta ed imponente nella forma acuta. In riguardo alla formula leucocitaria avrebbe anche osservato un aumento degli eosinofili.

Meloni e De-Galitiis riscontrarono sempre la leucocitosi nei cavalli morvosi, e l'osservarono pure su asini infettati sperimentalmente. Su questi fu messa in evidenza abbondante fin 24 ore dopo l'innesto. Detti autori prima e Meloni e Mancini poi presi in considerazione i metodi vigenti, per la diagnosi della morva, all'epoca dei loro studi, propongono di fondare sul reperto ematico il metodo di diagnosi migliore e più attendibile. Dopo una serie di numerose ricerche fatte su cavalli sicuramente morvosi, su sospetti, su sani o affetti da altre forme morvose, Meloni e Mancini, concludono che la leucocitosi nella morva non manca mai e persiste durante tutta la malattia dell'animale, che tutti i casi, nei quali la leucocitosi crea un rapporto tra i corpuscoli bianchi e rossi di 1:300 o anche meno sono da ritenersi assolutamente mocciosi, quando tale leucocitosi non può essere attribuita a nessun'altra malattia. Senza menomare il valore diagnostico della leucocitosi nell'infezione morvosa, oggi metodi più specifici permettono in modo sicuro di assicurarne l'esistenza, senza ricorrere, come vorrebbero i prefati autori, alla sola ricerca di essa, che potrà pur tuttavia rappresentare sempre un elemento prezioso di giudizio. Meloni e Mancini affermano ancora che oltre alterazione del rapporto fra globuli bianchi e rossi, si producono anche notevoli alterazioni e variazioni numeriche e qualitative dei bianchi fra loro, a secondo dello stadio dell'infezione. Ugualmente i globuli rossi possono ri-

dursi di numero, subire alterazione di forma e di dimensione, e perdere parte più o meno considerevole della loro emoglobina.

Il Levi oltre al reperto di leucocitosi morvosa, nella morva cronica parla di anemia morvosa, accompagnata da alterazioni morfologiche dei globuli (poichilocitosi).

Solo Nasse in un caso di morva cronica avrebbe trovato leucopenia. Sydney Cowplaud accenna alla tendenza delle emazie di agglomerarsi in masse irregolari (autoemoagglutinazione)

Burnett e Pearce hanno esaminato il sangue di 16 cavalli, di cui 15 erano stati riconosciuti affetti da morva colla prova della agglutinazione. Nei casi in cui fu impiegata la malleina, l'esame del sangue fu praticato prima dell'iniezione.

Le constatazioni da loro fatte sono le seguenti: sui sedici cavalli esaminati, in due casi il numero dei globuli rossi era normale (gli animali non presentavano segni clinici); in un caso era aumentato, tutti gli altri animali presentavano oligocitoemia.

Il censimento dei leucociti risultò normale in quattro casi (gli animali non presentavano sintomi clinici, salvo uno un leggero scolo nasale ed un altro non reagì alla malleina). In tutti gli altri casi più o meno è aumentato il numero dei leucociti, fra i quali sono in percentuale sempre più elevata i polinucleari.

Indubbiamente le ricerche nel sangue dei cavalli morvosi, intese a dar importanza alle modificazioni nel contenuto in eritrociti e leucociti possono fornire al clinico dati interessanti dal punto di vista della prognosi, indicando se la malattia è più o meno estesa e se la lotta dell'organismo infetto è validamente impegnata.

Favero cercando di stabilire il valore del potere catalitico del siero nella diagnosi della morva perviene a risultati negativi, ed afferma che la leucocitosi, almeno nella morva non sembra influisca sul contenuto in catalasi del siero di cavallo.

Bidault studiò in tre casi l'azione della malleina nella formula leucocitaria del cavallo morvoso, concludendo che la polinucleosi, già esistente nei soggetti morvosi, si accentua

considerevolmente, in seguito all'iniezione di detta sostanza. Anche nei cavalli sani la malleina aumenta il numero dei polinucleati, ma ad ogni modo questo è di molto più elevato nei morvosi malleinati. Ricerche del Tabusso sulla leucocitosi malleinica nel cavallo morvoso, collimano nei risultati con quelle di Bidault.

Invece Meloni e Giaffrè, per le esperienze da loro eseguite concludono che la malleina inoculata sotto cute provoca negli affetti da morva cronica leucocitosi scarsa, in quelli affetti da morva acuta rapida ipoleucocitosi assoluta e relativa, inoculata per via endovenosa, provoca nel cavallo affetto da morva cronica una modesta e rapida leucocitosi che culmina nelle prime due ore e sparisce assai lentamente in diversi giorni. Inoltre le dosi ripetute e crescenti di malleina producono nel cavallo sano leucocitosi notevole, rapida e di breve durata nelle prime inoculazioni, decrescente nelle seguenti, nulla nelle ultime, invece nel cavallo morvoso la leucocitosi nelle ultime prove dura più a lungo e non ha tendenza a scemare. I corpuscoli rossi del sangue non subiscono modificazione alcuna nè riduzione numerica per effetto della malleina. Secondo Burnett e Pearce l'esame del sangue di un animale morvoso in piena reazione malleinica indica un accrescimento considerevole dei polinucleari in rapporto al numero constatato antecedentemente. È sempre negli animali più affetti che si trova un numero maggiore di leucociti.

Actinomicosi.

Questa malattia può dar luogo a leucocitosi quando esiste suppurazione.

Ewing ebbe a riscontrarla molto intensa in un caso di actinomicosi polmonare nell'uomo, Cabot in un altro di actinomicosi del fegato.

Favero in un caso di stenosi dell'ileo da actinomicoma in una cavalla osservò una leucocitosi notevole, senza variazioni importanti nella formula leucocitaria. I globuli rossi non presentavano modificazioni di forma, di volume e di affinità cromatiche degne di rilievo.

La coagulazione del sangue si compiva molto rapidamente quasi immediatamente, con scarsa retrattilità del coagulo, che assunse una tinta tendente al rosso mattone, mentre il siero presentava un aspetto leggermente opalescente. L'autore non constatò la presenza di autoemoagglutinine ed isolisine.

Carbonchio ematico.

Secondo Johne, nei preparati a goccia pendente di sangue carbonchioso si può osservare un vero processo di eritrolisi.

Hutyra e Marek affermano che all'esame microscopico di sangue carbonchioso si nota un notevole aumento del numero dei leucociti.

Moore afferma che in alcuni casi del carbonchio ematico dei bovini il numero degli eosinofili può essere aumentato. A questo riguardo però Grosso osserva, che se si consultano le tabelle del suo trattato ci si può persuadere che la percentuale più alta (22 %) non potrebbe valere come aumento vero e proprio. Per contro, dice Grosso, sono discretamente numerosi i casi riportati in cui gli eosinofili sono sicurameute diminuiti (2,2 %).

I risultati ottenuti da Goetze nelle sue ricerche ematiche sul carbonchio del cavallo non gli permettono di giungere ad affermazioni conclusive.

In un caso di infezione carbonchiosa mortale nell'uomo Chauffard e Boidin hanno riscontrato una iperleucocitosi progressiva intensa, con scomparsa degli esosinofili al quarto giorno essendo durata l'infezione sette giorni.

Per la ricerca dei bacilli specifici nel sangue l'esame microscopico di questi nell'animale vivente, ha valore solamente poco tempo prima della morte (16-18 ore) perchè solo nell'ultimo periodo del decorso dell'infezione i bacilli sono sicuramente reperibili nel sangue.

Il potere antitriptico del siero di cavie infettate sperimentalmente di carbonchio ematico, secondo Favero, non può avere valore diagnostico. Questo autore identico risultato

ottenne per il carbonchio sintomatico, mentre per l'edema maligno detto potere sarebbe evidentemente aumentato.

Sono state fatte anche ricerche sul comportamento del sangue durante il periodo di vaccinazione anticarbonchiosa, ma esse meritano di essere ancora controllate.

Tetano.

Secondo Franke, e noi riportiamo alla lettera, nel cavallo un numero normale di leucociti o una leucopenia debbono essere considerati come un prognostico favorevole. Al contrario, questo autore in tre casi di tetano mortale, osservò una leucocitosi di lieve grado. Goetze dalle sue constatazioni sul reperto ematico nel tetano del cavallo non potè dedurre conclusioni attendibili. Meier constatò leucocitosi con polinucleosi e scomparsa completa degli eosinofili.

Il Favero in un caso di tetano ad esito letale nella vacca osservò un progressivo aumento nei globuli rossi ed una diminuzione pure progressiva per i bianchi, a carico essa dei neutrofili, mentre linfociti e forme di passaggio erano in crescita. Risultati quasi analoghi ottenne il Lanfranchi per il cane.

Il Ferrari in due casi di tetano del cavallo ottenne: nel primo ad esito letale, una progressiva e sensibilissima diminuzione dei globuli rossi, leucopenia all'inizio con tendenza a scomparire per ripresentarsi nel giorno della morte. Nel secondo caso, che fu seguìto da guarigione, osservò aumento leggero dei globuli rossi, sensibile dei linfociti con leggere oscillazioni dei neutrofili.

In cinque casi di tetano nel cavallo il König ha osservato un aumento più o meno considerevole nel numero dei globuli rossi e del tasso in emoglobina verso il periodo più avanzato della malattia ed in quello agonico.

Dai dati surriferiti si vede che non è possibile trarre conclusioni assolute.

Nel siero di cavalli tetanici Tabusso osservò assenza di autolisine e di isolisine, presenza invece di eterolisine di

auto, iso ed etero-agglutinine e constatò ancora un abbassamento del punto di congelamento di circa — 0,020.

Sommarie osservazioni microscopiche, eseguite da questo autore, sui globuli del sangue del cavallo tetanico, non gli fecero rilevare nessuna modificazione notevole sui caratteri morfologici di essi.

Adenite equina.

Friedberger, Fröhner, Meier e Berger osservano in questa malattia uno stato prodromico con leucopenia, poi man mano che i gangli si ammorbidiscono, si stabilisce la leucocitosi, che va parallela alla formazione dell'ascesso, fino a completa maturazione di questo.

E' di buon pronostico il ritorno dei leucociti al normale dopo l'apertura dell'ascesso. Se la leucocitosi persiste è segno evidente della permanenza di focolai latenti o della formazione di nuovi ingorghi ganglionari (Gasse). L'assenza di leucocitosi invece attesta difficoltà di suppurazione ed evoluzione patologica ritardata. Goetze afferma che quanto più si allontano dal normale i rapporti reciproci dei varii tipi leucocitarii tanto più è sfavorevole la prognosi, lo stesso significato assume l'assenza degli eosinofili. Gasse osservò solo polinucleosi relativa e ipolinfocitosi.

Franke ha fatte le stesse constatazioni ora riferite: al principio, valori leucocitari normali; quando i gangli si induriscono, comparsa della leucocitosi fino all'avvenuta suppurazione. Questo autore ha osservato inoltre che quando l'ascesso si forma a carico dei gangli sotto mascellari il numero dei leucociti è più basso che non quando avviene a spese dei gangli faringei.

Secondo il Fischer la formola leucocitaria non subisce variazioni molto considerevoli: i polinucleari rispetto agli altri sono in aumento.

Anche secondo le ricerche di Meloni e Mancini l'adenite equina provoca leucocitosi rimarchevole, con aumento notevole dei globuli bianchi e diminuzione di quelli rossi, fatto questo però che è di breve durata e scompare totalmente colla guarigione dell'animale.

Nell'infezione artificiale nel cavallo collo streptococco dell'adenite equina Grosso riscontrò eosinofilia ematica.

Il sangue nella forma setticemica della malattia intrattiene l'agente specifico, che può essere messo facilmente in evidenza mediante le culture o le inoculazioni agli animali da esperimento (topolino, preferibilmente coniglio).

Anasarca.

Sotto la denominazione di anasarca noi oggi non possiamo più accettare il concetto restrittivo del Bouley, che voleva farne una entità morbosa a sè, idiopatica e primitiva. Riteniamo invece che esso debba essere considerato come una manifestazione morbosa secondaria ad eziologia varia, con decorso clinico e quadro anatomo-patologico non costante.

Il Carpano in un caso di anasarca del cavallo, verificatosi in seguito ad inoculazione di streptococco all'esame del sangue, ha osservato: assenza di forme protozoarie o batteriche, una discreta oligocitoemia, un aumento di piastrine, una sensibile iperleucocitosi a tipo polinucleare. Di più ebbe a notare: Gli eosinofili rarissimi, rari poichilociti, rari micro e macrociti e qualche globulo cromatofilo.

Il Magazzari ha eseguito ricerche ematologiche in un caso di anasarca del cavallo, ottenendone i seguenti dati: in primo tempo una moderata oligocitemia ed una sensibile leucopenia, che andarono gradualmente scomparendo, anzi i leucociti giunsero fino a superare la cifra normale. Riguardo alla formula leucocitaria notò una iperleucocitosi polinucleare neutrofila. Per le modificazioni morfologiche osservò soltanto poichilocitosi.

La resistenza dei globuli rossi rispetto alle soluzioni saline non presentò differenze notevoli di fronte alle soluzioni ipotoniche, mentre più fragili si sarebbero mostrate verso quelle ipertoniche.

Il potere isolitico del siero era minore nel periodo iniziale della malattia, che non in quello risolutivo, allo stesso modo si comportava quello eterolitico rispetto alle emazie di coniglio e cane, mentre rimaneva invariato per i globuli rossi

di agnello. I dati surriferiti, osserva però il Magazzari stesso, non permettono, senza più ampie ricerche, di dedurre conclusioni di indole generale.

Affezioni purulente.

Rössle ha contato i globuli bianchi nei processi flemmonosi, negli ascessi acuti e cronici, nelle suppurazioni croniche e dopo interventi chirurgici nel cavallo.

Le piaghe suppurative e flemmonose provocano una leucocitosi moderata che affievolisce diminuendo la suppurazione andando parallela ad essa fino alla guarigione. Nei focolai purulenti circoscritti, valori elevati di leucociti parlano in favore di un ascesso e viceversa. Le operazioni in generale provocano un aumento del numero dei globuli bianchi che Rössle attribuisce a fenomeni di assorbimento a carico della breccia operatoria piuttosto che all'intervento di agenti ininfettivi.

Gasse nelle piaghe della pelle e del tessuto connettivo sottocutaneo, in un caso di piaga della cornea, ottiene gli stessi risultati: i globuli rossi restano nel limite normale, i leucociti sono aumentati. Nel periodo di riparazione, il numero dei leucociti si abbassa con deboli oscillazioni; mentre la polinucleosi neutrofila diminuisce, gli eosinofili, assenti prima, aumentano di numero man mano i neutrofili diminuiscono. I linfociti si comportano come questi ultimi. I grandi mononucleari e i basofili non variano molto. In un caso di processo suppurativo conseguente o scottatura molto estesa dei tegumenti, Gasse osservò delle modificazioni del sangue considerevoli. I globuli rossi erano il primo giorno in numero di 14.000.000, abbassandosi il terzo giorno a 6.700.000. Il numero totale dei leucociti si elevò il primo giorno da 7.000 a 28.800 e cadde il terzo giorno a 3.500. Il numero dei linfociti si elevò a 50-78 %, quello dei neutrofili si abbassò da 24 a 36 %. I grandi mononucleari e le forme di passaggio erano di molto accresciute (13 % il primo giorno). Eosinofili e basofili mancavano.

Negli ascessi qualunque sia la loro localizzazione, più la

raccolta purulenta è rimarchevole, più il numero assoluto dei leucociti è elevato. In un caso di un grosso ascesso della groppa il numero dei leucociti giunse a 47.700 colla percentuale dell'80-86 % di neutrofili. Ad ogni pulizia dell'ascesso, questo numero si abbassava per riaumentare ad ogni nuova raccolta di pus.

Altrettanto il Gasse osservò per l'artrite suppurata e per varie altre lesioni che colpiscono gli arti e si può dire in genere per tutti i processi suppurativi.

In generale i valori dei globuli rossi restano nei limiti normali qualunque sia il corso della malattia, buono o cattivo.

In caso di meningo mielite purulenta Schöpfer constatò un elevato numero di globuli rossi. I leucociti, che ad un primo esame erano relativamente in un numero normale, dopo 7 giorni presentavano un rialzo del 25 % circa, con prevalenza da parte dei polinucleari, in rapporto evidentemente all'infiammazione purulenta del midollo spinale.

Altrettanto lo stesso autore constatò in un caso di ascesso subdurale del cavallo.

Il Rivabella in due casi di congiuntivite purulenta del cavallo, all'esame microscopico del sangue riscontrò in uno spiccata eosinofilia, nell'altro evidente leucocitosi neutrofila e il numero dei leucociti di poco superiore al normale.

Meningite cerebro-spinale infettiva.

Accurate ricerche sul reperto ematico in questa affezione morbosa del cavallo furono eseguite, su nove casi, dallo Schröpfer. Egli osservò per i globuli rossi un comportamento normale, per quelli bianchi, una leucocitosi non molto considerevole però. Riguardo alle singole specie dei leucociti meritano una speciale considerazione gli eosinofili i quali nel maggior numero dei casi si presentano evidentemente aumentati. In due casi il numero di questi era assai basso e questo fatto era con tutta probabilità, secondo l'autore da interpretarsi di prognostico sfavorevole, come difatti risultò dall'esito della malattia e si poteva dedurre anche dal forte aumento dei polinucleari e dalla diminuzione dei leucociti.

Lo Schröpfer si chiede quale interpretazione si possa dare all'osservata eosinofilia nella malattia di Borna. A tale scopo, per quanto è possibile riesce ad escludere che i cavalli presi in esame, potessero essere affetti da elmintiasi intestinale o da malattie della pelle, avendo proceduto ad un esame sistematico delle feci e ad una ispezione accurata del tegumento. Non sapendosi come altrimenti spiegare il fatto, attribuendo forse un eccessivo valore diagnostico all'eosinofilia di origine parassitaria, l'autore avanza l'ipotesi se si debba attribuire all'eventuale natura parassitaria degli elementi endonucleari, osservati da Joest in questa malattia, la causa dell'eosinofilia riscontrata. Più recentemente con ulteriori ricerche sulla natura della malattia di Borna, Joest vorrebbe annoverare fra i clamidozoi le inclusioni endonucleari.

Facciamo seguire a questo paragrafo il reperto ematico osservato in altre

Affezioni del sistema nervoso.

Il numero dei globuli rossi ed il tasso emoglobinico furono osservati in aumento più o meno notevole verso la fine della malattia e nell'approssimarsi della morte in caso di encefalite acuta del cavallo, in un caso di insolazione, in uno di paralisi, e in un altro di emorragia midollare (König).

Eseguì nel cavallo ricerche ematologiche importanti Schröpfer in parecchi casi di meningite cerebro-spinale infettiva, di meningo mielite purulenta, di ascesso subdurale, di congestione cerebrale, di leptomeningite subacuta, di encefalite subacuta e di idrocefalo cronico. Il reperto ematico delle prime tre affezioni lo abbiamo già riferito.

Dal complesso delle osservazioni fatte dall'autore si può concludere che nelle malattie nervose, il reperto ematico si comporta pressapoco come nelle altre malattie che entrano nel campo della medicina o della chirurgia.

Se il caso, senza riguardo alla natura della malattia nervosa, finisce colla morte, i valori assoluti e relativi delle singole specie di leucociti assumono un tipico cambiamento e lo squilibrio delle cifre relative è appunto quello che ha

maggior significato. Nei casi più tipici esso si esprime, ad esempio, nel seguente modo: i polinucleari raggiungono persino il 90.2-90,8 °/₀, i linfociti invece diminuiscono al 4,9-5,7 °/₀; i mononucleari non cambiano, gli eosinofili mancano assolutamente. Questi casi, osserva l'autore, sono in favore della tesi di Friedberger-Fröhner, Gasse, Engel, Meier e Pappenheim sull'antagonismo fra polinucleari ed eosinofili. Nei casi di malattia nervosa ad esito favorevole, il quadro ematico non si presenta così grave. Si nota una considerevole polinucleosi (83.9-86,3-87,1-82,5 °/₀) ed una corrispondente ipolinfocitosi (10,3-4,5-6,4-7,9 °/₀) ma per la circostanza che i linfociti non sono troppo diminuiti e per il fatto che gli eosinofili non mancano interamente — le rispettive cifre sono 1,9-0,8-2,6-3,1 °/₀ — in questi casi la formula leucocitaria permette di avanzare prognostico buono. Si può quindi dedurre che un forte permanente aumento collettivo dei leucociti accompagnato da costante elevato tasso dei neutrofili (80-95 °/₀) e corrispondente abbassamento dei linfociti e sparizione degli eosinofili deve sempre indurre ad una prognosi infausta.

I due casi di idrocefalo cronico osservati dall'autore, presentavano l'uno un numero normale di eritrociti e leucocitosi, l'altro aumento delle emazie e tasso leucocitario fisiologico. Nel primo caso la proporzione fra le singole qualità dei globuli bianchi, prescindendo da una minima eosinofilia, non era spostata.

Una osservazione fatta da Schröpfer è la seguente: egli è indotto ad ammettere una influenza sugli elementi del sangue da parte del sistema centrale vaso motore, perchè in un caso nel quale aveva osservati dati normali ad un primo esame, ad un secondo constatò un aumento considerevole nel numero degli eritrociti e dei leucociti, mentre lo stato clinico dell'animale non era per nulla affatto cambiato.

Rabbia.

In questa malattia Friedrich ha segnatato una iperleucocitosi considerevole del sangue. Courmont e Lesieur hanno riscontrato iperleucocitosi con polinucleosi considerevole (98 p. 100) tanto negli animali quanto nell'uomo.

Babes ha pure constatata una leucocitosi polinucleare evidente, che però non appare secondo lui molto precocemente.

Il sangue può divenire più scuro e più fluido; la sua analisi chimica non rileva nulla di particolare (Babes).

Afta epizootica.

Nel periodo dell'eruzione esantematica, il Valillo ammette, per esperienze proprie, una modificazione quantitativa dei leucociti eosinofili del sangue, e propriamente una ipoesinofilia ematica. In contrapposto alla quale osservò una intensa istoeosinofilia nelle lesioni locali e nel tubo digerente, il quale fatto gli fa supporre che dall'esame del sangue non appena insorti i primi sintomi febbrili dovrebbe risultare un aumento assoluto e relativo degli eosinofili o per lo meno si dovrebbe trovare il numero loro e la proporzione inalterata. Ossia, secondo il Vallillo, in primo tempo partirebbe dal sangue verso i centri generatori, eccitandone la funzione, l'azione chemiotattica positiva del *virus* aftoso sulle cellule eosinofile, per cui si avrebbe eosinofila ematica. « Più tardi invece, localizzandosi il *virus* nei tessuti, l'azione chemiotattica positiva dell'organismo si sposta e allora essa si esercita indirettamente sugli organi di formazione delle cellule eosinofile, direttamente sul sangue, per cui questo si scarica di tutti quegli elementi cellulari, le cui proprietà difensive corrispondono alla natura dell'eccitante ».

Il sangue è nell'afta epizootica infettante nel periodo in cui appare la febbre.

Siegel vorrebbe che l'agente dell'afta, fosse un organismo diplococcico, che egli considera come un protozoo e denomina *cytorhyctes aptharum.* Secondo Siegel questo parassita si può mettere in evidenza nel sangue, durante il periodo febbrile, nella linfa aftosa e nelle lesioni del miocardio, tanto frequenti specialmente nella forma fulminante.

Le constatazioni di Siegel furono confermate da Nicolaus. Egli pure trova nel sangue degli animali affetti da febbre aftosa, nel sangue fissato con alcool ed etere, e colo-

rato col bleu di Loeffler, dei corpuscoli circondati da un alone, che egli considera come *cytoryctes*; la presenza dell'alone permetterebbe di distinguere questi corpuscoli, da altri che si possono trovare nel preparato.

Nel sangue di animali sani non avrebbe mai riscontrati tali elementi.

I reperti di Siegel e Nicolaus che abbiamo voluto citare a titolo storico sono stati contraddetti da molti altri autori (Betegh, Christiansen, Vehrle e Zwick, ecc.), in modo che ormai le loro conclusioni non sonopiù accettate da nessuno.

Così pure non avrebbero che un interesse storico le ricerche di von Niessen, il quale ha sostenuto di avere isolato dal sangue e da altri materiali di animali aftosi una forma particolare di micetozoo, che sarebbe, secondo lui, l'agente dell'infezione.

Febbre tifoide del cavallo.

Intendiamo sotto questa denominazione le diverse forme cliniche sostenute dal virus filtrabile invisibile e incoltivabile di Basset-Bemelmans.

Per quello che è reperto ematologico durante il decorso di questa forma morbosa le opinioni degli autori sono molto diverse. Così ad esempio riguardo alla coagulabilità del sangue Sanson, Signol, Boiteux, Liautard, Trelut hanno trovato che essa è più intensa, più spiccata, mentre Denoc, Charlier, Denis Lambert, Vilain, Baillif, Palat avrebbero riscontrato che è assai diminuita tanto che la coagulazione si compie con estrema lentezza; infine Girard avrebbe osservato che essa non avviene affatto rimanendo il sangue liquido e incoagulato.

Al principio, durante la fase flogistica della malattia, secondo Cadiot, il sangue raccolto in un ematometro coagula più presto che non allo stato normale ed il coagulo nero è meno esteso di quello bianco. Più tardi la separazione degli elementi del sangue è rapida, si effettua in meno di otto a dieci minuti, ma la coagulazione è lenta, incomincia solo

dopo 15 minuti almeno. Infine nei casi gravi e acutissimi, ossia nella fase settica, il sangue non coagula che molto difficilmente e neppure totalmente.

La fibrina è aumentata dapprincipio, se ne trova il doppio della quantità normale: gr. 5-7,5 per litro (Gréhaut, Trasbot); più tardi la fibrina diminuisce.

Il coagulo solido, retrattile al principio della malattia diviene fluido, molle nei periodi più avanzati. Spesso nello spessore del coagulo rosso si notano dei punti biancastri dovuti a dei globuli bianchi e a della materia grassa inglobati dai globuli rossi.

Il siero separatosi più o meno rapidamente dal coagulo, offre una tinta gialla scura, per l'abbondanza di materia colorante della bile e dei pigmenti biliari che si trovano in dissoluzione. La reazione Gmelin mette in evidenza un anello che presenta successivamente i colori giallo-verdastro, verde e ble-indaco. Questa reazione non è sempre costante ed è meno intensa negli ultimi momenti della malattia.

Secondo le ricerche di Neubert nella febbre tifoide all'inizio della malattia, nel primo giorno l'emoglobina è libera nel sangue circolante, nel secondo e nel terzo giorno essa si trasforma nei suoi derivati secondarii, fra i quali prima l'ematoidina, nel periodo successivo, al quarto, e talvolta anche al terzo o al secondo giorno si constata la bilirubina nel sangue in un quantitativo assai superiore al noimale del doppio ed anche più. In rari casi gravi, nei quali il tasso di bilirubina è molto elevato, vi è nel sangue anche urobilina.

Anche il Moretti nel sangue ha riscontrato numerosi cristalli di forme svariate, dalla lamellare, a quella ad aghi, che ritiene assai probabilmente siano di ematoidina.

La cifra dei globuli bianchi è aumentata del terzo o del doppio sulla quantità normale; si trovano 30 o 40.000 leucociti per millimetro cubico (Trasbot).

Dopo la guarigione il tasso dei leucociti si restituisce alla norma molto tempo dopo la scomparsa dei sintomi clinici (Sturhan).

Secondo Goetze la rottura dell'equilibrio fra i rapporti normali dei diversi tipi di leucociti quanto più è accentuata tanto più è di cattivo prognostico.

Secondo Gasse però la leucocitosi in questa malattia sta a significare una complicazione. Secondo questo autore la comparsa della polmonite infettiva durante il decorso della febbre tifoide può essere avvertita dalla formula leucocitaria; se i rapporti leucocitari sono normali si tratta di febbre tifoide non complicata. Ad ogni modo questo reperto non può avere valore assoluto, nè nell'un senso nè nell'altro.

Secondo Franke nella influenza pettorale del cavallo si può avere leucocitosi, mentre questa manca nell'influenza erisipelatosa, che si sviluppa cogli stessi sintomi clinici. Questo reperto concorda con quanto osservò anche Goetze.

Meier e Wiendieck avrebbero osservato all'inizio della febbre tifoide una ipoleucocitosi, non constatata però da Franke visitando l'animale nel secondo giorno dall'invasione dell'affezione. Franke però ricorda cinque casi, dove osservò leucopenia iniziale, ma in questi il decorso della malattia fu atipico, con gravi lesioni cardiache nell'ulteriore decorso.

Finzi nella semplice manifestazione di catarro laringotracheale, della febbre tifoide, riscontrò la formula leucocitaria del sangue normale.

Riguardo al comportamento dei globuli rossi Wetze nelle sue ricerche ottenne risultati che non gli permettono di condividere l'opinione di Wiendieck, secondo cui il numero delle emazie diminuirebbe durante l'affezione polmonare. Ad ogni modo i più ritengono che i globuli rossi rimangono per del tempo intatti o diminuiscono di numero, questo fatto è molto marcato nel periodo di stato e in quello letale della malattia, essi allora sono pure alterati, in via di distruzione, come lo testimoniano i cristalli di ematoidina che circolano nel sangue.

Durante il decorso della malattia e secondo le esperienze di Basset e Bemelmans fino a tre mesi dopo l'avvenuta guarigione il sangue è infettante. Se prelevato da un animale ammalato lo è altamente, tanto che poche goccie sono sufficienti a trasmettere la malattia.

Nel periodo agonico il sangue di cavalli tifosi quasi costantemente racchiude diverse specie di batterî, che sono espressione di infezioni secondarie e nulla hanno a che vedere coll'etiologia della malattia stessa.

Quanto alla febbre tifoide a tipo petecchiale, il Bonard ha osservato che il peso specifico ed il tasso in emoglobina del sangue si abbassa notevolmente fino a 1045 il primo, 28 il secondo (misurato questo coll'emômetro di Sahli).

König in tre casi di febbre petecchiale ha osservato diminuzione dei globuli rossi e del tasso di emoglobina.

Sembra che la leucocitosi durante il corso della febbre petecchiale sia di buon augurio.

Franke in due casi di questa forma morbosa ha osservata una leucocitosi che aumenta al principio per ritornare normale e ripresentarsi ad ogni nuovo accesso della malattia.

Goetze non osservò variazioni tipiche nel valore assoluto o relativo dei leucociti.

Fischer osservò invece una formula leucocitaria molto alterata da quella normale, nel senso che i polinucleari erano in proporzione altissima (91 %), i mononucleari e gli eosinofili quasi scomparsi.

Facciamo entrare nel capitolo della febbre tifoide anche il reperto ematico della polmonite crupale infettiva e della pleurite infettiva, riconosciuto dai seguenti citati autori, perchè oggi non è più possibile staccare fra loro, eziologicamente, queste forme morbose.

Wiendieck, nelle sue ricerche sullo stato del sangue nella polmonite « crupale » del cavallo, mostra che esiste una certa correlazione fra estensione dell'essudato e intensità della leucocitosi, la quale si traduce sempre con un grande aumento di leucociti neutrofili. L'autore ha osservato che questa leucocitosi, sopratutto accentuata nel periodo di risoluzione, era preceduta, nel periodo iniziale, da leucopenia. Anche quando manca la leucocitosi, si ha sempre una polinucleosi relativa e una diminuzione dei linfociti. Il numero degli eosinofili è assai diminuito.

Anche Meloni e Mancini ammettono nella polmonite crupale la comparsa di leucocitosi che può essere anche rimarchevole, ma è sempre effimera e sparisce rapidamente col processo morboso.

Secondo Franke *la polmonite infettiva* è nel maggior numero dei casi accompagnata dalla leucocitosi. Questo autore non ha potuto stabilire se all'inizio della malattia esiste

una leucopenia, come assieme al Wiendieck lo ha dimostrato anche il Meier. Il massimo della leucocitosi nei casi tipici si osserva al quinto giorno della polmonite, poi il numero dei leucociti si abbassa fino a ritornare normale in capo a tre o quattro giorni. Se ciò non si verifica è segno che l'animale non è perfettamente guarito, può persistere ad esempio un vizio o una debolezza cardiaca.

Il Berger concludendo sulle ricerche da lui fatte nella *polmonite infettiva*, afferma che la leucocitosi in questa malattia è la regola, che l'entità di essa non dipende dalla gravità della forma morbosa, che non esiste parallelismo fra leucocitosi ed elevamento termico, che sono i polinucleari che si trovano in forte percentuale sugli altri elementi leucocitari, mentre i mononucleari sono in diminuzione, che infine gli eosinofili o mancano o sono assai scarsi.

Meier e Zschokke trovarono in un cavallo ammalato di polmonite crupale un aumento di leucociti di 540 miliardi (normalmente per litro esistono 8 miliardi, in un cavallo di 500 chilogrammi ve ne sono allora 270 miliardi).

König in sei casi di polmonite del cavallo ad esito letale, riscontrò nel periodo terminale della malattia aumento delle emazie e del tasso emoglobinico del sangue. Anche Wiendieck osservò nella polmonite crupale una riduzione nel numero delle emazie che si stabilisce proporzionalmente alla durata della malattia.

Nella pleurite, come Gasse ha dimostrato, si ha leucocitosi. Solo in tre casi mortali questo autore non osservò nè ipo nè iperleucocitosi.

L'intensità della leucocitosi non è in rapporto stretto colla gravità della malattia; essa non è sempre parallela alla elevazione della temperatura. All'accrescimento dei leucociti prendono parte sopratutto i neutrofili e le forme di transizione. L'abbassamento dei linfociti non è molto accentuato. Gli eosinofili scompaiono. Meier ha osservato che le cause che aumentano i neutrofili diminuiscono gli eosinofili. L'assenza degli eosinofili, secondo Goetze, è di giudizio favorevole.

La leucocitosi va generalmente interpretata favorevolmente. La prognosi è riservata nei casi in cui è contestabile, è sfavorevole quando il numero dei leucociti si mantiene normale.

Peste del cavallo.

Secondo Frei la composizione del sangue dei cavalli affetti da peste africana, presenta le seguenti particolarità; il volume dei corpuscoli del sangue e la viscosità di esso, sono ipernormali durante il decorso della malattia, viceversa sono notevolmente diminuiti al disotto della norma nello stadio finale dell'epidemia e qualche tempo dopo.

Il peso specifico, il potere conduttore del siero si trovano sotto alla normale media tanto nell'acne, come anche negli ultimi stadî della malattia.

Nei cavalli immuni il volume dei corpuscoli del sangue è più piccolo di quello dei normali. Il peso specifico del sangue e la tensione del siero sono senza dubbio diminuiti. L'abbondante salasso determina diminuzione del volume dei corpuscoli sanguigni, della viscosità del sangue e del siero, del peso specifico del sangue e del siero, come pure dell'indice di rifrazione di questo ultimo, ma però l'aumento del potere conduttore.

Richmann ha descritto nell'interno delle emazie di cavalli affetti da peste equina (corpuscoli di Richmann), corpuscoli speciali, che ritiene come forme parassitarie e crede di poterle paragonare a quelle dell'anemia perniciosa malarica dell'uomo.

Peste bovina.

Nella peste bovina un interessante reperto ematico sarebbe stato riscontrato dal Braddon.

Tale reperto è dovuto a particolari corpuscoli, ritenuti dall'autore, probabilmente specifici, che possono essere messi in evidenza nelle emazie con un metodo speciale di colorazione.

Il sangue, secondo che appare più o meno idroemico, è diluito nella proporzione di un terzo e di un quinto del suo volume con una miscela all'1 °/₀ di citrato di potassio e al 0,5 °/₀ di bleu di metilene officinale.

Alcune goccie di tale miscela sono esaminate fra vetrino

copri e porta-oggetti; un'altra parte è distribuita in vetrini da orologio esposti all'aria in scatole Petri conservate in mezzo umido. Quando l'esame rivela la presenza dei corpuscoli, possono essere fatti degli strisci nel modo solito.

Dopo un periodo che varia da sei a quarantotto ore, appaiono nelle emazie dei corpuscoli bleu, i quali più tardi emettono nelle emazie stesse uno o più filamenti, che sviluppandosi ed ispessendosi, limitano un corpuscolo allungato affilato che si estende nel globulo.

Detti corpuscoli sono diritti o incurvati, essi possono presentare un contorno semplice o doppio, le loro estremità sono appuntite o arrotondate, la loro larghezza è molto variabile. Una emazia può contenere uno o più di questi corpuscoli, i quali possono anche essere liberi nel plasma oppure essere fissati per una estremità all'emazia.

Nel sangue prelevato nelle forme acute di peste bovina, le forme descritte possono far difetto, ma i globuli rossi sono screziati di piccoli punti bleu. Alcune emazie possono contenere dei corpuscoli più grossi, alcuni dei quali hanno forma di virgola.

I corpuscoli sono mobili, dotati di un movimento analogo al movimento browniano esagerato e conservano la loro mobilità anche dopo alcuni giorni di osservazione.

I corpuscoli sono stati messi in evidenza dal Braddon in un numero vastissimo di casi e furono riscontrati anche otto mesi dopo la guarigione. Negli animali infettati sperimentalmente, essi si rendono palesi al terzo giorno e precedono l'inizio della febbre, indi diventano rapidamente numerosi tanto che perfino i tre quarti delle emazie possono divenire invasi.

Nelle capre, che sono portatrici passive del virus della peste bovina, i corpuscoli sono stati osservati, non nelle forme comuni ai bovini, ma sotto l'aspetto di filamenti conici.

Le osservazioni sulle emazie dei mammiferi pubblicate da Johnson in seguito e come complemento del lavoro di Braddon sembrano stabilire la specificità dei corpuscoli scoperti da quest'ultimo. Le emazie di bovini sani o affetti da diverse altre malattie non presentano mai corpuscoli identici a quelli descritti da Braddon nella peste bovina.

Il Baldrey, nelle sue ricerche ematologiche sulla peste bovina, ha riscontrato due aumenti di leucociti: il primo che compare già ventiquattro ore dopo l'iniezione del virus, raggiunge il suo massimo dopo 2 - 3 giorni con una cifra che è due o tre volte la cifra normale. Si osserva in seguito una diminuzione di leucociti e poi un nuovo aumento al sesto giorno, però sempre meno accentuato del primo; e se l'animale sopravvive si constata una caduta definitiva alla norma del tasso leucocitario. Questi risultati sarebbero concordi con quelli di Refik Bey. A ciascun periodo di leucocitosi corrisponde una diminuzione di mononucleati ed un aumento dei polinucleati; un forte aumento persistente sarebbe di prognosi fatale. Gli eosinofili scompaiono verso il terzo giorno. Secondo Baldrey i fenomeni leucocitari, così netti nella malattia che evolve naturalmente, lo sono meno negli animali immunizzati parzialmente o completamente col siero preventivo. In questi casi, il primo aumento leucocitario non raggiunge il suo massimo che al quinto giorno, ed il secondo aumento, molto più notevole, non si presenta che il nono o decimo giorno. L'animale talvolta muore in seguito, al momento di una forte diminuzione di leucociti. Se sopravvive, si nota ancora un terzo rialzo al sedicesimo o diciasettesimo giorno, che sopravviene senza fenomeni febbrili, allorquando l'animale è in piena convalescenza.

Secondo Croveri e Salvestroni (*Appunti di Ematologia bovina somale,* di prossima pubblicazione), il numero degli eritrociti non si modifica sensibilmente; quello dei leucociti diminuisce fino a raggiungere un terzo del normale. Diminuiscono i linfociti ed aumentano invece i neutrofili; diminuiscono, fino a scomparire gli eosinofili che ricompaiono, quando l'animale ha superato l'acme della malattia. Generalmente la loro comparsa ha buon valore prognostico.

Vaiolo equino.

Come nelle malattie esantematiche dell'uomo si verifica una notevole eosinofilia ematica, così Bidault, la riscontrò ma in minor grado, nel vaiolo equino.

Osteomalacia del cavallo.

Joest e Jähnichen hanno eseguito ricerche nel sangue di cavalli affetti da osteomalacia e dalle osservazioni da loro fatte concludono: mentre nel sangue di cavalli sani si presentano rarissimi eritrociti provvisti di resti nucleari, dallo aspetto anaplasmatico (corpi di Jolly), nell'esteomalacia del cavallo siffatti eritrociti sono aumentati; inoltre si riscontra sempre anche una leucocitosi neutrofila.

Questi due reperti, secondo gli autori, sono l'espressione di uno stimolo abnorme del midollo osseo.

Carougeau ha osservato diminuzione dell'alcalinità del sangue fino a un terzo del normale, altrettanto ed anche più può diminuire il tasso emoglobinico. I globuli rossi diminuiscono, talvolta rapidamente; mentre i leucociti aumentano sensibilmente.

Febbre biliare emoglobinurica dei bovini in Algeria.

È una malattia assai grave dell'Africa del Nord i cui sintomi principali sono: ittero, emoglobinuria e febbre.

Esperienze di Sergent e Lhéritier staccano questa malattia dalle piroplasmosi e dalle anaplasmosi, ma ne lasciano sconosciuta l'etiologia.

Ricerche ematologiche fatte da Pasteur, Vallery, Radot e Lheritier, su bovini dànno un reperto quasi costante.

Il siero contiene emoglobina e pigmenti biliari. Dopo la coagulazione del sangue, il siero appare rosso con dei riflessi gialli molto netti; dopo centrifugazione del sangue raccolto in una soluzione ossalata, il plasma è rosso giallastro. Allo spettroscopio si osservano grosse linee di ossiemoglobina. L'esame spettroscopico e la reazione di Gmelin accusano la presenza di pigmenti biliari.

La resistenza globulare è di molto diminuita, tanto che i globuli possono presentare emolisi già alla soluzione clorurata 0,86, mentre che sul bovino la resistenza minima delle emazie sane è compresa nei limiti 0,58 - 0,68.

I globuli messi a contatto col siero di bovini normali, non sono emolizzati, come pure nel siero non sono contenute emolisine. Vi è sempre assenza di autoagglutinazione delle emazie.

Il numero dei globuli rossi è di molto diminuito (fino ad 1.800.000), presentano notevole anisocitosi con globuli giganti, alcune emazie sono nucleate, numerose contengono granulazioni basofile.

I globuli bianchi non presentano notevoli variazioni.

Tembladera.

La tembladera è una malattia tossica propria della specie equina, ovina, bovina e caprina, essa è caratterizzata da manifestazioni nervose dovute all'ingestione di una pianta della famiglia delle graminacee: la *festuca Hieronymi*, il cui potere tossico sarebbe aumentato dalla simbiosi del micelio di un fungo speciale: l'*endococcidium tembladerae.* E' assai diffusa nelle regioni delle Ande.

Rivas e Zanoli, che dànno uno studio completo di questa malattia, avrebbero osservato, in ricerche sperimentali da loro fatte, che il sangue non soffre alcuna alterazione importante riguardo alla composizione numerica dei suoi elementi. Al contrario la formula leucocitaria presenterebbe delle variazioni che consisterebbero in un aumento talvolta assai considerevole dei polinucleari, con corrispettiva diminuzione dei linfociti e nella diminuzione o scomparsa completa degli eosinofili.

Occorrerebbero però, osservano questi autori, più ampie ricerche per verificare se tali cambiamenti debbono essere attribuiti alla malattia o a delle cause estranee, quali l'alimentazione insufficiente, o l'inanizione di cui soffrono di solito gli ammalati per la difficoltà o l'impossibilità di prendere alimenti.

Malattie parassitarie.

Tutte le svariate forme di elmintiasi intestinale, le trichinosi, le echinococcosi, la distomatosi epatica, le bilarziosi,

nella medicina umana, furono l'oggetto di una vasta serie di importanti lavori, dopochè fu dimostrata la relativa regola colla quale in queste forme parassitarie si manifesta l'eosinofilia ematica e questa fu quindi accuratamente studiata allo scopo di assegnarle il valore diagnostico dovutole.

Senza voler entrare in merito all'importante questione possiamo asserire, in base all'analisi delle suaccennate numerose ricerche, che la eosinofilia ematica non è per nulla affatto specifica e necessariamente costante nelle affezioni in parola (perchè la si può constatare in altre infezioni od intossicazioni, e può rimanere assente nelle prime), pur sempre rimanendo fermo il concetto, che la sua constatazione nelle malattie apirettiche deve immediatamente richiamare l'attenzione del medico sulle malattie verminose.

In medicina veterinaria sono pure molti i ricercatori che rivolsero la loro attenzione allo studio della eosinofilia locale nelle affezioni elmintiche, mentre pochi approfondirono l'argomento delle variazioni leucocitarie e, come espressione di esse, del contegno degli eosinofili, nel sangue circolante, dei colpiti dalle stesse affezioni. Le ricerche più importanti in questo senso sono quelle di Weimberg e Alexander, di Vallillo, di Heller e di Finzi.

Weimberg e Alexander, mettendosi al riparo da ogni causa d'errore, hanno studiato il sangue di 144 cavalli, dai quali essi hanno raccolto all'autopsia, tutti i prodotti intestinali.

Lo stato generale dell'animale, come pure le lesioni anatomo-patologiche, sono state in ogni caso tenute in considerazione. Gli autori riuscirono così a mettere in luce un certo numero di fatti. La percentuale degli elementi eosinofili può rimanere normale negli animali fortemente infestati da ascaridi; al contrario un numero debole di elminti può condurre ad una eosinofilia assai forte; in una parola, la reazione dell'organismo non è necessariamente proporzionale al numero dei parassiti intestinali. Lo studio della formula leucocitaria non dà ragguagli utili nelle associazioni parassitarie. Infine una infezione, la fatica, la presenza nell'intestino di elminti morti o macerati, abbassano considerevolmente l'eosinofilia od anche la fanno scomparire,

Vallillo, eseguendo accurate ricerche nei cavalli affetti da sclerostomiasi, conferma i risultati dei due precedenti autori, dimostrando che l'eosinofilia non è affatto in rapporto proporzionale col numero dei parassiti stessi.

Heller, volendo stabilire se la presenza di ascaridi, ossiuridi e larve d'estro può determinare eosinofilia nel sangue di cavallo, dopo una lunga serie di ricerche sul sangue di cavalli infestati da tali parassiti, comparate con quelle eseguite nel sangue di cavalli sani, giunge alle seguenti conclusioni.

Nel sangue degli animali infestati dai suddetti parassiti si osserva costantemente un aumento degli eosinofili, aumento che non raggiunge però mai le alte cifre riscontrate per l'uomo.

Stabilita la media di eosinofili nel sangue di animali sani nella cifra di 3,30 %, l'autore otterrebbe che questa viene ad essere innalzata nell'infestione da ossiuridi all'8,04 %, in quella da ascaridi al 7,78 %, in quella da larve d'estro al 5,66 %.

Per gli altri elementi leucocitari si noterebbe un aumento di linfociti, diminuzione dei mononucleari delle forme di passaggio e dei polinucleari neutrofili.

A carico degli eosinofili l'autore non osservò suddivisioni nucleari od inclusioni endonucleari, secondo il concetto di Naegeli, mentre osservò processi degenerativi.

L'aumento degli eosinofili e dei linfociti, fattosi a spese delle altre forme leucocitarie, è da attribuirsi ai prodotti di ricambio dei parassiti, assorbiti in circolo, ed in esso, secondo il concetto generale, l'autore intravvede un processo di difesa dell'organismo. Questo mancherebbe quando il cavallo è in preda ad altra grave malattia interna.

Dopo l'eliminazione dei parassiti, gli eosinofili ritornano presto al normale.

I globuli rossi del sangue, come il suo esame fisico-chimico, non hanno importanza in queste affezioni o per lo meno non sono stati finora presi in considerazione in medicina veterinaria.

In medicina umana sono state fatte ricerche sulla resistenza globulare nell'anchilostomiasi da Darré e Leger.

Finzi, in un caso di intossicazione neuro-cerebrale da sclerostoma, nel cavallo non constata nulla di anormale all'esame del sangue e riscontra una formula leucocitaria, nella quale le cifre relative sono molto vicine alle fisiologiche. Riguardo all'eosinofilia ematica, conclude che essa non è per nulla affatto proporzionale alla gravità dell'infestazione parassitaria ed è da confermarsi il concetto che la reazione organica nella produzione degli eosinofili è individuale. Inoltre si deve considerare l'istoeosinofilia, che può agire come depauperatrice degli eosinofili del sangue.

Ad ogni modo anche il Finzi afferma che la presenza di molti acidofili nel sangue, se non ci permetterà da sola di fondare una diagnosi di elmintiasi, ci permetterà almeno di sospettarla quando poi altri sintomi vengano ad appoggiare il reperto ematologico.

L'esame del sangue quindi in quelle forme di magrezza e di deperimento dell'animale, nelle quali è difficile stabilire un movente etiologico sicuro, può fornire un indirizzo diagnostico e può ancora indicare dati interessanti in quelle malattie, che colle infestioni parassitarie hanno sintomi clinici comuni (anemia, leucemia, ecc.).

Sull'eosinofilia ematica sperimentale, anche in medicina veterinaria furono compiute parecchie ricerche e sull'interpretazione che ad essa va data, eseguì un importante studio recentemente il Grosso.

Per quanto riguarda la distomatosi e la echinococcosi bovina, non ci risulta che siano stati fatti studî speciali, per mettere in evidenza una eosinofilia ematica, oppure, ad eccezione dei ben noti fenomeni anemici, altre particolarità del sangue. A questo riguardo condividiamo il concetto di Rook, riferendoci a queste infestazioni dei bovini, il quale in un interessante lavoro compiuto nel laboratorio del prof. Marcone, sulla distomatosi delle pecore, dopo aver ricordate le variazioni del sangue nelle pecore ammalate, nei suoi caratteri fisici, nel peso, e in alcuni caratteri chimici, afferma di essersi reso conto dell'importanza che può avere l'esame del sangue, fatto con i moderni mezzi di ricerca, nello studio di queste malattie.

Malattie della pelle.

E' ben noto il fatto della eosinofilia ematica, che si riscontra quasi costantemente nelle malattie della pelle dell'uomo.

In medicina veterinaria conosciamo le ricerche di Fayet e Rivabella. Il Fayet, in cavalli affetti dalle cosidette piaghe estive, ha osservato eosinofilia generale. Questo reperto fu constatato, anche prima delle ricerche di Fayet, dal Rivabella in cavalli affetti dalle stesse lesioni, e lo fu in modo tanto evidente, che in certi casi gli eosinofili del sangue raggiungevano perfino il 64 %.

Le cosidette piaghe estive, secondo il Fayet e qualche altro autore, sarebbero sostenute dalla presenza di uno speciale nematode: la *filaria-immitis*, ed in questo senso l'eosinofilia sanguigna entrerebbe nel gruppo di quelle verminose. Il Rivabella però non riuscì mai a mettere in evidenza detto parassita, come agente dell'infezione,

Microfilariosi.

Secondo le ricerche di Yakimoff, Schokhor, Koselkine, Winogradoff e Demidoff, la formula leucocitaria dei cavalli, il cui sangue è parassitato da microfilariosi, è la seguente: linfociti 28,6-48,8 % — grandi mononucleari 0,1-4 % — forme di transizione 1,7-4,3 % — polinucleari neutrofili 40,8-56,1 % — eosinofili 5,1-11,7 % — forme di Türk 0,5 % — mielociti 0,8 %.

Farcino criptococcico.

Dalle esperienze di Meloni e Mancini, risulta che negli animali affetti da farcino criptococcico, se pure questo è diffuso, la leucocitosi o manca, oppure è di poco marcata.

Spirillosi equina.

In questa forma morbosa il Carpano osservò fra gli eritrociti: macro e microciti, poichilociti, normoblasti, emazie

con granulazioni basofile e con policromatofilia. I leucociti furono riscontrati in soprannumero e il tipo della formula leucocitaria è la seguente: mononucleati 57 % — neutrofili 39 % — forme di passaggio 3,50 % — eosinofili 0,50 %.

Sarcosporidiosi.

Croveri e Salvestroni riscontrarono in bovini sarcosporidiotici una progressiva diminuzione di emazie e leucociti. La formula leucocitaria media è questa: linfociti 74 — neutrofili 14 — forme di passaggio 5 — eosinofili 0,65 — cellule patologiche 6,35.

Piroplasmosi.

Hutyra e Marek affermano che nelle piroplasmosi equine il sangue coagula rapidamente; il sangue si separa prontamente in due strati: uno superiore di colore giallo intenso ed uno inferiore di color rosso, mentre il siero è colorato in giallo bruno. Nei rari casi di decorso cronico però il sangue coagula più lentamente che nel normale e la sua coagulabilità è meno intensa.

Il sangue presenta inoltre un colorito più sbiadito, si presenta come un sangue lavato secondo Baruchello e Mori, od assume la tinta di sciroppo di fragola, nella forma cronica, secondo l'espressione di Stazzi.

Il Frei dalle sue ricerche ematologiche fisico-chimiche deduce che col progredire dell'emolisi e parallelamente alla diminuzione del numero e del volume degli eritrociti si osserva una diminuzione del potere di conducibilità e di viscosità del sangue; tali alterazioni insorgono assai rapidamente, talvolta già dopo 24-48 ore dall'avvenuta infezione e prima che la temperatura del corpo si elevi.

Per quanto riguarda il comportamento dei globuli rossi ed il tasso emoglobinico, il Perrucci, che ha eseguite importanti ricerche ematologiche, su cavalli affetti da piroplasmosi equina acuta con decorso ed esito benigno, è giunto ai se-

guenti risultati, che concordano con quelli ottenuti da altri ricercatori.

Il numero delle emazie fin dall'inizio della malattia trovasi sensibilmente diminuito, per raggiungere poi cifre più basse a malattia inoltrata e più specialmente nel periodo della convalescenza, durante la quale può scendere fino anche a 3.200.000 e la durata di una tale oligocitemia può protrarsi per 24-30 ed anche più giorni.

Riguardo alle alterazioni morfologiche gli eritrociti paras sitati non presentano variazioni di grandezza, mentre fra gli altri si riscontrano, micro e macrotiti, questi ultimi caratterizzati da colorito più sbiadito e da contorni alquanto irregolari. Il Perrucci non osservò mai presenza di megaloblasti nel sangue dei cavalli da lui esaminati, mentre si riscontravano eritrociti nucleati e policromatofili; mise in evidenza inoltre fenomeni da parte delle emazie che vanno attribuiti ad autoemoagglutinazione.

Alla deglobulizzazione del sangue si accompagna sempre diminuzione del tasso emoglobinico, questa però non è parallela per intensità e per evoluzione a quella, nel senso che è sempre meno marcata e che ad un numero basso di emazie non corrisponde di necessità un più scarso quantitativo di emoglobina.

Di conseguenza il rapporto fra emoglobina e corpuscoli rossi, ossia il valore globulare viene ad essere aumentato sul normale, cioè è maggiore all'unità.

Anche nella piroplasmosi cronica i globuli rossi si comportano in modo pressapoco analogo. Stazzi trovò che il loro numero può discendere a 2.450.000, Scotti a 2.400.000, Lanfranchi constatò la presenza di macrociti e microciti, di globuli rossi nucleati appartenenti ai normoblasti e in un periodo più avanzato di qualche emazia punteggiata gigante.

Per quanto si riferisce al comportamento dei globuli bianchi nella piroplasmosi equina acuta ad esito benigno e seguita da guarigione Perrucci ha stabilito: « che la quantità dei leucociti si accresce. L'aumento di questi due elementi per altro non è sempre uguale. In qualche caso avviene che le cifre più alte sono raggiunte nei primi giorni della malattia; altre volte l'aumento maggiore si verifica solo più tardi, al-

l'inizio della convalescenza. Ad ogni modo la curva di questa iperleucocitosi presenta in tutti i casi variazioni più o meno marcate sulla quantità dei globuli bianchi, senza carattere speciale. Questo perturbamento leucocitario si mantiene attivo durante la convalescenza, riuscendo ancora abbastanza sensibile nell'ultimo periodo di questa, quando già i valori dell'emoglobina e dei globuli rossi sono rientrati nei limiti normali.

« L'equilibrio dei leucociti, turbato nel numero, varia anche nel rapporto che hanno fra loro le diverse varietà dei globuli. Così, nei primi giorni della malattia si trova una diminuzione marcata dei neutrofili, che scendono alla metà circa della cifra normale, ed aumento dei mononucleati medi e piccoli; contemporaneamente si nota la scomparsa degli eosinofili e delle mastzellen. A questo primo periodo, breve per durata, ne segue tosto un altro più lungo nel quale i fatti si invertono; cioè mentre i neutrofili aumentano, i mononucleati medi e piccoli sono in diminuzione notevole. Inoltre ricompaiono gli eosinofili e le mastzellen, le quali ultime si dimostrano talvolta anch'esse aumentate.

« Finalmente, a convalescenza inoltrata, la percentuale dei neutrofili rientra nella norma e si inizia, invece, un sensibile aumento degli eosinofili, il quale dura 7-13 giorni e chiude il quadro del perturbamento leucocitario. Durante quest'ultima fase le cellule eosinofile possono salire fino al 17 °/₀ e alcune di esse presentarsi con dimensioni inferiori alle comuni e con un nucleo unico, più o meno eccentrico e frastagliato. Questi elementi mononucleari debbono interpretarsi quali forme giovani delle cellule eosinofile normali.

« Come appare a prima vista, nella piroplasmosi equina il comportamento delle cellule bianche del sangue è di ordine tutto affatto diverso di quello che si verifica nella malaria dell'uomo, ove la leucopenia è costante e, per la formola leucocitaria, si può rilevare spesso un aumento dei linfociti e dei mononucleari non granulosi a discapito delle altre forme di globuli bianchi.

« Per quanto riguarda la presenza dei *globuli bianchi in istolisi*, questi elementi così alterati si rinvengono in numero più o meno sensibile a seconda del momento nel quale si

considera la curva della formola ematologica. Nel breve periodo iniziale dell'aumento dei mononucleati a scapito dei neutrofili, per esempio, i fenomeni dell'istolisi sono più marcati nei primi; mentre nel successivo periodo di polinucleosi, l'alterazione morfologica della cellula bianca è in modo spiccato evidente nel dominio dei leucociti a nucleo polimorfo e a granulazioni neutrofile.

« Fra i processi regressivi di questi ultimi (*omogeinizzazione del protoplasma*, *cariolisi*, *cariorressi*, ecc.), merita speciale menzione quello della *picnosi nucleare*. Per tale processo si vedono alcune cellule contenere 3-4, e anche più, frammenti nucleari rotondi, omogenei, fortemente colorati in bleu, e possono rinvenirsi anche dei nuclei picnotici liberi, cioè affatto sprovvisti di protoplasma.

« A carico dei mononucleati, si osserva la ripartizione irregolare del protoplasma e la vacuolizzazione del medesimo accanto ai diversi gradi di istolisi nucleare. Talvolta questi elementi danno immagini pallide, difficilmente apprezzabili, che potrebbero essere chiamate *ombre di mononucleati*.

« Debbo aggiungere ancora che i fenomeni di regressione nucleare possono sorprendersi anche sui semplici nuclei, intorno ai quali non è più visibile traccia di protoplasma ».

Nella forma cronica della piroplasmosi equina Lanfranchi osservò numerosi mononucleati, forme di passaggio, polinucleati neutrofili e relativamente un gran numero di cellule eosinofile, tanto che, in alcuni preparati, fino a due o tre se ne trovavano sotto un solo campo microscopico.

Quanto abbiamo detto sul reperto ematico per la piroplasmosi equina potremmo in gran parte ripeterlo per quella bovina, specialmente per ciò che si riferisce ai cangiamenti quantitativi e qualitativi delle emazie.

Riguardo al numero di esse, per citare solo poche cifre dimostrative, Dschunkovsky e Luhs li videro scendere fino 800.000 e Moussu nelle forme acute fino a 300.000.

Per il reperto batteriologico del sangue nelle piroplasmosi rimandiamo alla terza parte di questo lavoro.

Nel lavoro *Les Babesioses* di Chanvelot, si troveranno più completi ragguagli nel reperto ematico delle piroplasmosi.

Nelle *anaplasmosi* possono in gran parte, come è facile comprendere, essere osservate le variazioni ematiche che si riscontrano nelle babebiosi.

Tripanosomiasi.

Notevoli sono le alterazioni del sangue che possono presentarsi in queste forme morbose e per esse ci riferiamo specialmente a quanto riassumono nel loro classico trattato Laveran e Mesnil.

In tutte le tripanosomiasi si osserva nell'ultimo periodo una anemia più o meno pronunciata, spesso assai forte tanto da rendersi evidente anche all' esame del sangue ad occhio nudo. Il sangue si presenta pallido lavato. Nierenstein constatò nella nagana sperimentale una certa acidità del sangue probabilmente successiva alla produzione di amino-acidi.

L'anemia è però molto meno rapida e profonda che non nelle affezioni prodotte da ematozoarii endoglobulari (piroplasmosi), i quali vivono direttamente a spese delle emazie, distruggendone una gran quantità.

Le osservazioni fatte su numerosi conteggi delle emazie in animali infetti da diversi tripanosomi concordano nello stabilire il tasso basso degli eritrociti che si produce in un periodo avanzato di queste infezioni: il Lignières in cavalli affetti da mal del Caderas osservò una riduzione fino a 2.500.000, Elmassian e Mignon nella stessa forma anche di più, Bruce nella vacca affetta da nagana fino ad 1.800.000. Nello stesso tempo che le emazie diminuiscono di numero, esse subiscono le alterazioni che si riscontrano in tutte le anemie, si osservano emazie policromatiche ed a granulazioni basofile, micro e macrociti ed emazie nucleate (normoblasti) (Kauthack, Durham e Blandford).

Evidentemente anche il tasso emoglobinico del sangue è sensibilmente diminuito, Hilling nel nagana ha constatato che esso può essere ridotto fino al 25, 30 %.

Riguardo al comportamento dei globuli bianchi, come norma generale si ha un aumento del numero dei polimuleari all' inizio della malattia; nel decorso dell' infezione la

cifra totale dei leucociti si abbassa, ma la proporzione dei piccoli mononucleari o dei linfociti è fortemente accresciuta; nel periodo terminale si ha un nuovo aumento dei polinucleari.

Nel morbo coitale maligno Marek e Fröhner constatarono una leucocitosi assai notevole, con una marcata eosinofilia.

Croveri e Salvestroni affermano che nei bovini somali affetti da tripanosi le formule leucocitarie non hanno speciale interesse, staccandosi poco da quelle di animali sani.

Si osserva spesso, nei preparati a fresco di sangue di animali affetti da tripanosomiasi l'autoagglutinazione delle emazie. Esse in luogo di disporsi, come nel sangue normale, formano degli ammassi irregolari, separati da spazii chiari occupati dal siero; si può osservare a occhio nudo l'autoagglutinazione delle emazie osservando i preparati di sangue per trasparenza. Nel 1898 Kauthack, Durham e Blandford hanno segnalato l'auto-agglutinazione degli eritrociti negli animali affetti da nagana. Da allora diversi ricercatori hanno constatato che questo fenomeno è comune a tutte le tripanosomiasi degli animali e dell'uomo.

Si può col siero di un animale affetto da tripanosomiasi ottenere l'agglutinazione delle emazie di un animale sano della stessa specie. Queste lavate e nella diluizione del 5 % vengono messe a contatto col siero dell'animale ammalato.

Importanti studii ematologici sulle tripanosomiasi sperimentali furono compiuti da Lanfranchi, Levi Della Vida, Verdorzi, ecc.

Emoglobinuria parossistica.

Nella emoglobinuria paralitica il sangue raccolto dalla giugulare coagula di solito lentamente, secondo Cadiot, alle volte invece più rapidamente del normate, secondo Hutyra e Marek. Ad ogni modo però il coagulo si conserva più a lungo molle e perciò la quantità di siero che si separa è relativamente minore di quel che si verifica in condizioni normali.

In tre cavalli che ci fu dato osservare quest'anno nella nostra Clinica, affetti da emoglobinuria parossistica in forma grave, abbiamo osservato che il sangue impiega per la coagulazione un tempo ben diverso: nel primo 36', nel secondo 11', nel terzo 38'. Il coagulo nel primo e nel terzo caso è gelatinoso, molle dapprincipio, ma poi la retrazione si compie bene, ciò che non si verifica nel secondo caso.

All'inizio della malattia e quando questa è molto grave anche durante l'ulteriore decorso di essa, il siero si presenta di colore rossastro od anche nettamente rosso, secondo la percentuale che contiene di emoglobina disciolta; talvolta il siero contiene anche dei cristalli di ematoidina.

Tuttavia il siero di un cavallo affetto da emoglobina può anche presentare assenza di emolisi (Roger), come osservammo noi pure in due casi.

L'analisi chimica mette in evidenza un tasso elevato di urea e di altri prodotti di disassimilazione. La reazione è alcalina, ma più debole che non nella norma, secondo Dieckerhoff l'alcalinità è notevolmente scemata, identica constatazione fu fatta da noi.

Hutyra e Marek non riuscirono mai a constatare un aumento del peso specifico normale del sangue (1,052 — 1,054), benchè questo venisse determinato colla massima accuratezza mediante il picnometro (vedi pag. 11), il sangue veniva prelevato dopo cessati i sudori oppure dopo l'alimentazione e la prensione di una regolare quantità di bevande. Il peso specifico nei tre casi osservati da noi si manteneva nei limiti normali. Il contenuto emoglobinico del sangue è di solito piuttosto scemato; l'emometro di Fleischl dà cifre inferiori a 70, mentre il tasso normale dà cifre che oscillano fra 70 e 80.

All'esame microscopico la maggior parte delle emazie appaiono coi loro caratteri fisiologici, alcune però sono alterate, deformate, irregolari. Il numero dei globuli rossi è di solito lievemente scemato, al disotto di 7.400.000 (Hutyra e Marek).

Le nostre ricerche, come quelle di Goetze, ci fecero escludere variazioni nel numero dei globuli rossi e di quelli bianchi. Invece Mac Fadyean ebbe a notare specialmente all'inizio della malattia un aumento nel numero degli eritrociti e Schindelka e Höfling constatarono spesso un notevole aumento

del tasso emoglobinico; tali reperti però, anche secondo l'opinione di Hutyra e Marek, non essendo convalidati da una contemporanea determinazione della concentrazione molecolare del sangue, non hanno nessun valore dimostrativo. Così Wetzl ha sperimentalmente dimostrato che una considerevole perdita d'acqua da parte dell'organismo è accompagnata, a cagione della maggior densità del sangue, da un aumento relativo del numero dei corpuscoli del sangue e del contenuto emoglobinico. Così nell'emoglobinemia parossistica possono verificarsi notevoli perdite di acqua (sudori profusi, rifiuto delle bevande da parte dei pazienti coricati). Il fatto, del resto che in parecchi casi esaminati da Schindelka e da Höfling la presenza di emoglobina disciolta nel siero non sempre si accompagna ad una elevata percentuale d'emoglobina del sangue, si può solo in tal guisa spiegare (Hutyra e Marek).

Nell' emoglobinuria parossistica, denominata dall'autore, secondo il suo concetto, reumatica, il König ha osservato che il numero degli eritrociti e la quantità di emoglobina aumentano durante la notte e sopratutto dopo aver sottoposto l'animale al lavoro. L'autore spiega questo aumento secondo il concetto di Wetzl. In generale però secondo König, il numero delle emazie si mantiene nei limiti normali; tuttavia nei casi gravi ad esito rapidamente letale, esso è già aumentato all'inizio della malattia e cresce ancor più approssimandosi alla morte. La quantità di emoglobina in alcuni casi osservati dall'autore era aumentata all'inizio dell'affezione; nei casi gravi, parallelamente e proporzionalmente all' aumento degli eritrociti aumentava l' emoglobina, al contrario nelle forme benigne il quantitativo d'emoglobina diminuiva man mano che si avvicinava la guarigione. Il König non ha mai riscontrato alterazioni di sorta nella forma o nella colorazione delle emazie.

Nei casi di guarigione da emoglobinemia paralitica, le alterazioni del sangue ben presto scompaiono e il reperto ematico ritorna normale.

Il Tessè nell'emoglobinuria da lui chiamata *da lavoro*, ha pure riscontrato un aumento notevole dei globuli rossi dopo il lavoro.

A proposito delle esperienze di König e di Tessé osserviamo però che solo negli attacchi molto leggeri o soltanto nel periodo di guarigione, può essere sottoposto il cavallo ad un lavoro sia pur lieve e quindi constatare l'aumento dei globuli rossi.

Emofilia.

Guillebeau in un bovino, che tatuato all'orecchio, per segnatura, ebbe una emorragia che lo condusse alla morte in 29 giorni riscontrò elementi morfologici del sangue normali, solo i leucociti leggermente aumentati di numero.

Collasso puerperale.

Cozette anche in questa malattia ha riscontrata una evidente leucocitosi.

Diabete mellito.

L'unico accenno a ricerche ematologiche compiute in questa malattia per quanto si riferisce ai nostri animali domestici, è quello del Preller, il quale, in un vasto studio compiuto sul diabete mellito del cavallo afferma che lo zucchero in questa forma morbosa è aumentato nel sangue e può salire fino al 5,21 ‰ (mellitemia). In medicina umana è stato osservato che il numero dei globuli rossi e la quantità di emoglobina sono generalmente elevati anche negli individui dimagriti e affetti da tubercolosi. È probabile che l'iperglobulia sia dovuta ad una diminuzione della parte liquida del sangue per la diuresi aumentata.

Marasma senile. Cachessia. Denutrizione.

In un caso di marasma senile nel cavallo lo Schröpfer constatò normale il tasso dei globuli rossi, elevato del doppio quello dei globuli bianchi. La percentuale delle singole specie di questi si manteneva nei limiti normali.

In un altro caso di denutrizione accentuata, pure in un cavallo, lo stesso autore trova normale il numero dei leucociti, aumentato quello degli eritrociti. Riguardo alla formula leucocitaria, risultava degno di nota soltanto un certo aumento delle forme di transizione. L'autore stesso però non sa dedurre alcuna conclusione da questi casi.

Negli stati cachettici dei cavalli, Finzi, contro l'opinione di diversi autori, è riuscito a dimostrare, esperimentando sopra un gran numero di casi, che il potere antitriptico del siero di sangue non è mai aumentato.

Bolsaggine.

Postinkows per il primo ha dimostrato che il sangue di cavalli affetti da bolsaggine era molto denso e la densità era appunto in rapporto colla gravità dell'affezione. Egli ha pure constatato che il numero dei globuli rossi per millimetro cubico era di molto superiore alla norma, Bonard fece ricerche sul sangue di una ventina di cavalli affetti da enfisema polmonare a gradi diversi, e constatò che i valori del peso specifico e dell'emoglobina sono in rapporto coll'intensità delle lesioni anatomiche: ogni volta che la bolsaggine era molto accentuata, il sangue presentava densità e tasso emoglobinico molto elevati.

Per la densità ottenne cifre quali: 1060, 1062, 1069; per il tenore di emoglobina: 75, 78, 80, 85, 100 (misurate coll'emometro di Sahli).

Anche il numero dei globuli rossi aumenta notevolmente nella bolsaggine ed è tanto più elevato, quanto più avanzato ed intenso è il processo enfisematoso: lo dimostrano le seguenti cifre riscontrate da Bonard: cavalli gravemente bolsi presentavano per mmc. un numero di emazie di: 11.120.000 — 11.760.000 — 13.860.000 — 15.640.000.

In questo aumento del numero delle emazie e dell'emoglobina nei cavalli enfisematosi il Mary vuol vedere un compenso per l'organismo dell'assorbimento insufficiente di ossigeno da parte dei polmoni.

Nell'interpretazione di questo aumento delle emazie ci si potrebbe chiedere se, in questo caso, non sarebbe veramente

opportuno un metodo comparativo di esame della massa totale del sangue, ad escludere l'influenza che potrebbe eventualmente avere, una stasi sanguigna, sia pur lieve, che può ammettersi susseguente all'enfisema polmonare. Rimandiamo a pag. 6 per le osservazioni sull'esame del computo totale del sangue nei nostri animali.

Nefrite.

Goetze ha fatto ricerche ematologiche su cavalli affetti da questa forma morbosa, ma i risultati da lui ottenuti non hanno importanza dal punto di vista clinico.

Affezioni dell'apparato digerente.

Il König in 33 casi di coliche del cavallo, — non dice però se alcune fossero di natura verminosa o no, e in sette casi di gastro-enterite osservò che il numero dei globuli rossi ed il tenore in emoglobina aumentarono più o meno verso la fine dell'affezione e sopratutto nell'approssimarsi della morte.

Goetze osservò nella peritonite del cavallo, troppe poche osservazioni esistono per riunire in un solo paragrafo il reperto ematico delle sierose ammalate, durante lo stadio ascendente della malattia una diminuzione dei corpuscoli bianchi, che nel periodo discendente si trasformava in una leucocitosi che raggiungeva fino a due, tre volte il numero normale dei leucociti. Nelle malattie dell'apparato digerente, secondo Goetze, una netta leucocitosi parla per la diagnosi di peritonite, una linfocitosi invece per quella di gastro-enterite cronica.

Löwe ha eseguite importanti ricerche sul sangue di trenta cavalli affetti da disturbi gastro-intestinali, che nella pratica veterinaria vengono compresi sotto il nome di coliche e che precisamente erano sostenuti: 1 caso da gastrite, 2 da crampi e ingorgo associati, 2 da sovraccarico di alimenti, 9 da ingorgo intestinale, 2 da abnorme fermentazione, 5 da catarro gastro-intestinale, 3 da enterite catarrale acuta, 1 da enterite

crupale, 1 da volvulo dell'intestino tenue, 1 da calcolo intestinale, 2 da catarro dell'intestino grasso, 1 da peritonite adesiva. Ventisei di questi cavalli guarirono, uno (quello della peritonite adesiva) ebbe guarigione incompleta, due (quello affetto da volvulo e l'altro da sopraccarico di alimenti con successiva rottura dello stomaco) morirono, quello del calcolo intestinale fu abbattuto.

In senso generale fu osservato che le variazioni nel complesso del sangue sono molto analoghe in queste diverse forme.

I leucociti si staccano dalla norma, perchè si presentano per lo più aumentati in ciascuna di queste affezioni e talvolta anche in percentuale assai considerevole. Riguardo a tale aumento non si comportano ugualmente le singole specie di leucociti: i linfociti presentano quasi regolarmente una diminuzione, in grado differente, fino alla loro completa sparizione; al contrario si ha un aumento quasi regolare dei mononucleari, ai quali è dovuta in gran parte le leucocitosi.

I polinucleari raramente diminuiscono, per lo più presentano cifre che non si allontanano dalle fisiologiche o sono anche essi in aumento. In quest'ultimo caso gli eosinofili o sono diminuiti o mancano totalmente; confermando l'antagonismo fra polinucleari ed eosinofili, già affermato anche da Gasse. Le matzellen non manifestano cangiamenti notevoli, ma quasi sempre mancano.

Il numero degli eritrociti non soffre variazioni. Perciò nelle malattie dell'apparato gastro-intestinale, in conseguenza di pronunciata leucocitosi, il rapporto fra emazie e globuli bianchi si presenta assai ristretto, eccettuati i casi letali, descritti da König, dove osservandosi cresciuto il numero dei globuli rossi, il rapporto si conserva vicino al normale.

Il Löwe non potè dimostrare che l' impiego di clisteri di impacchi o di massaggi semplici o medicati, abbia influenza nelle modificazioni del reperto ematico. Identica constatazione fece riguardo della somministrazione di purganti per via orale o per iniezione, di morfina o di altri calmanti, della esecuzione del salasso, ecc.

Il Löwe conclude la serie delle sue ricerche affermando, ed in questo siamo perfettamente d'accordo con lui, che le

ricerche ematiche nelle malattie dell'apparato digerente, non hanno nella pratica veteninaria, un valore specifico in considerazione della diagnosi, della prognosi e della terapìa.

Il siero di sangue di bovini affetti da enterite cronica, secondo le esperienze di Finzi, ha un potere antitriptico inferiore al normale e distrugge costantemente le emazie di coniglio e frequentemente quelle di cavallo.

Tumori.

In medicina veterinaria le ricerche ematologiche fatte su bovini ed equini affetti da neoplasmi sono rarissime, come del resto non sono molto numerose nè conclusive quelle eseguite nella medicina dell'uomo. Quivi è specialmente negli ammalati di cancro dello stomaco che il sangue è stato studiato, ma i dati raccolti non sono patognomonici.

Osserviamo per lo più i sintomi generali dell' anemia e quindi riduzione più o meno accentuata delle emazie con poichilocitosi, anisocitosi, policromatofilia, comparsa di normoblasti, mielociti, ecc., difatti Kullmann ha dimostrato che le cellule cancerine sono dotate di una secrezione ad intenso potere globulicida.

Il tasso emoglobinico varia molto da un caso all'altro, per lo più il suo abbassamento è più proporzionalmente accentuato che non quello delle emazie, per cui il valore globulare oscilla fra 0,4 e l'unità.

A carico dei globuli bianchi si possono osservare modificazioni qualitative e quantitative più o meno evidenti, ma dalle quali non è possibile trarre conclusioni tassative. Per lo più si osserva un aumento dei leucociti, e fra questi specialmente da parte dei polinucleari. E' però stata constatata alle volte anche una notevole eosinofilia.

Nel cavallo, in un caso di sarcomatosi con evoluzione progressiva del tumore negli organi interni, Gasse ha riscontrata leucocitosi con una certa polinucleosi relativa.

Secondo Goetze nella linfosarcomatosi del cavallo ha un cattivo significato una formula leucocitaria anormale.

La prognosi è poi particolarmente sfavorevole quando il numero dei neutrofili è alto e gli eosinofili mancano.

Contrariamente a quanto era stato stabilito da Brieger e Trebring e da Poggennpohl, l'aumento del potere antitriptico del siero di sangue non può essere considerato come sindrone caratteristica del cancro, per quanto esso si presenti nei cancerosi considerevolmente aumentato (Weimberg e Mello).

Le isolisine nel siero di cavalli portatori di tumori maligni furono due volte su undici messe in evidenza dal Mello.

Eseguendo ricerche nel siero di cavalli concerosi in numero di trenta e su quello di cavalli affetti da altre forme morbose o sani, il Mello ha fatte le seguenti osservazioni: i sieri di cavalli affetti da neoplasie maligne si presentano dopo la loro inattivazione per 1/2 ora a 55°, alterati nella loro costituzione per una più o meno intensa coagulazione, direttamente conseguente alla diminuita alcalinità del sangue. Un tale fenomeno, assai frequente per quanto non specifico, potendosi osservare anche in stati suppurativi degli organi interni (del resto abbastanza facilmente differenziabili dagli stati cancerosi) non dovrebbe mai essere trascurato, secondo Mello, nella diagnosi corrente delle affezioni neoplasiche.

Veleni ematici.

In patologia veterinaria, come in patologia umana noi dobbiamo considerare le alterazioni chimiche e morfologiche del sangue secondarie all'azione dei *veleni ematici* propriamente detti. Noi divideremo tali veleni in cinque gruppi distinti.

In un *primo gruppo* comprendiamo quelle sostanze, la cui azione è rivolta ai globuli rossi agglutinandoli, e sono l'abrina, la ricina e la crotina, lequa li sono contenute rispettivamente nei semi di *abrus precatorius,* di ricino e di croton tiglio.

Mentre l'abrina e la ricina agiscono come agglutinanti delle emazie nel sangue di quasi tutti gli animali, la crotina ha un'azione solo leggermente agglutinante nel sangue di bue.

In un *secondo gruppo* comprenderemo veleni ematici che hanno sul sangue azione emolitica; sciolgono cioè i corpuscoli rossi e ne estraggono il pigmento. Se la quantità

delle emazie disciolte è grande, una parte della emoglobina si trasforma in metaemoglobina, con notevole diminuzione dell'alcalescenza del sangue. La coagulabilità del sangue è aumentata.

Queste sostanze sono: 1° gli emolitici inorganici: potassa caustica, soda caustica, carbonati alcalini, idrogeno arsenicale; 2° gli emolitici organici: alcooli, etere, glicerina, saponi, iodocianogeno; 3° gli emolitici di origine animale: sali biliari, veleni di serpenti, di ragni, di vermi; 4° gli emolitici vegetali: menta, saponine, ecc.; gli emolitici microbici, come la tetano lisina.

In un *terzo gruppo* comprenderemo quei veleni ematici che producono la soluzione delle emazie o, senza provocare questa, fissano l'ossigeno dell'ossiemoglobina in forma di metaemoglobina. Questa modificazione comporta nel sangue una colorazione bruna e una diminuzione dell'alcalinità, e perciò si chiama anche metaemoglobina acida, che spettroscopicamente è caratterizzata specialmente da una linea di assorbimento nel rosso. Questi veleni ematici sono: il clorato di potassio, il ferricianuro potassico, il nitrito di sodio (questo nel lungo intestino del cavallo e del bue può derivare dal nitrato di sodio), il sottonitrato di bismuto.

In un *quarto gruppo* considereremo quei veleni ematici che provocano una combinazione coll'emoglobina del sangue. Fra queste sostanze le più hanno soltanto interesse teorico, merita considerazione soltanto l'acido carbonico. Abbiamo già ricordato quale è lo spettro della ossicarboemoglobina e come l'ossido di carbonio può essere messo in evidenza chimicamente.

In un *quinto gruppo* comprenderemo quei veleni ematici che inibiscono la coagulabilità del sangue e sono: l'irudina, una sostanza contenuta in taluni vermi intestinali, nel peptone (1), le soluzioni di ossalati, citrati, metafosfati floruri.

(1) A proposito del peptone Lereboullet e Vaucher pensano che una modesta dose di esso, metta in libertà del citozima e forse aumenti la coagulabilità del sangue, come farebbero i sieri normali, e sarebbe essa pure capace di provocare fenomeni anafilattoidi.

LETTERATURA

ABDERHALDEN, *Zeit. f. Hyg.*, 1902. *Archiv. Pflüg.*, t. XLIII, 1902.

ABDERHALDEN, *Zeit. f. phys. Chem.*, t. XXIII, p. 511; t. XXIV, p. 65; t. XXV, p. 115 - 521.

ACHARD, *Nuovi procedimenti d'esplorazione clinica.* Masson, 1902.

ACHARD - RAMOND, *C. R. Soc. de Biol.*, LXVI, 8 maggio 1909.

ALBRECHT, *Ostetricia del cavallo*, 1913.

ANDRAL - GAVARRET - DELAFOND, *Ricerche sulla composizione del sangue*, Parigi 1884.

ARLOING, *Art. « Cheval » Dict. de phys. dé Richet*, p. 350,

ARTHUS - CHAPIRO, *Ricerche sulla retrazione del coagulo. Arch., intern.*, 1908, vol. VI, pag. 298 - 305.

ARUCH, *Manuale di Semiotica Medica Veterinaria.* 1907. — Unione Tipografico-Editrice Torinese, 1910.

AUCHÈ, *Sulla ricerca dei pigmenti biliari. Soc. de Biol.*, 4 febbraio 1908, p. 297.

AUCHÈ, *Ricerche spettroscopiche della bile. Comp. ren. de l'Acad. de Sciences*, 2 marzo 1908.

BADONG, « *Sull'irudina* » *Arch. f. Path. u. Pharm*, 1905, vol. LII, p. 242.

BALDONI, *Ricerche sopra alcune modificazioni del sangue in seguito al salasso generale nei solipedi.* — *La Clinica Veterinaria*, 1909-1910.

BALDREY, *Journ. trop. veter. Sc.*, t. I, n. 1, p. 23, 1906; t. VI, n. 1, p. 1-20, 1911; n. 2-3, 1911.

BARRIER, *Rec. de Med. Veter.*, n. 13, 1914.

BARUCHELLO, *Malattie del ricambio materiale e del sangue.* — *Enciclopedia Italiana di Veterinaria*, Vallardi.

BARUCHELLO - MORI, *Sulla etiologia del così detto tifo o febbre petecchiale del cavallo.* Contributo allo studio della Piroplasmosi equina — *Annali d'Igiene Sperimentale*, 1906, fasc. I.

BELVING, *Centr. f, Klin. Med.*, 1888, n. 36.

Bensaude, *Art. « Examen du sang » in Manuel de diagnostic med.*, t. II, Parigi, Rueff. èdit.

Bernard, *La crioscopia e le sue applicazioni cliniche. — Revue de médécine*, 10 febbraio 1902.

Berger, *L'importanza delle ricerche ematologiche nelle malattie infettive dei cavalli in riguardo alla diagnosi e alla prognosi.* — Inaug. Dissert., Berna, 1909.

Bezançon, *Le differenti specie cellulari del tessuto connettivo del sangue. — Presse Medicale*, 23 novembre 1898.

Bezançon, *Il sangue e gli organi ematopoietici. — Arch. gener. de med.*, 1900 - 1901.

Bezançon - Labbè, *I leucociti nelle malattie infettive. — Presse Med.*, 8 novembre 1902.

Bezançon - Labbè, *Il sangue nelle malattie. — Arch. gener. de Med.*, giugno 1902.

Bezançon - Labbè, *Valore diagnostico e prognostico della formula emoleucocitaria nelle malattie infettive. — Traité de Pathologie gener.*, t. VI.

Bezançon - Griffon - Philibert, *Ricerca del bacillo tubercolare nel sangue coll'omogeneizzazione del coagulo. — Soc. de Biol*, gennaio 1903 e in *Presse Med.*, 14 gennaio 1903.

Bezançon - Labbè, *Valore diagnostico dei leucociti. — Gazette de Hôpitaux*, 6 giugno 1903.

Bezançon - Labbè, *Trattato d'emotologia.* Parigi 1904.

Bibet, *Ricerche sul contegno dei leucociti nel sangue dei bovini.* — Inaug. Dissert., Bern, 1908.

Bidault, *I leucociti del sangue del cavallo.* — Soc. Centr., 1904, p. 671.

Bidault, *Ricerche sulle leucocitosi del sangue di cavallo e su certune leucocitosi sperimentali. — Arch. de Med. esper. et anat. path.*, t. 16, 1904, p. 355 - 374.

Bidault, *Osservazioni su un caso di ittero infettivo nel cavallo. — Revue gener. de Med. Veter.*, 1913, vol. 2.

Biernaki, *Centralbltt. fur uinere medicin*, 1891, n. 31.

Bierthen *Ricerche sulla constatazione della bilirubina nella bile, nell'urina e nel siero di sangue del cavallo.* — Inaug. Dissert., Bern, 1906.

Bisanti - Panisset, *Il bacillo tubercolare nel sangue dopo un pasto infettante.* — C. R. Soc. de Biol., 21 gennaio 1905.

Bizzozzero, Atti della R. Accademia delle Scienze di Torino, maggio, 1879, vol. XIV.

Blunschy, *Contributo alla dottrina della viscosità del sangue.* — Inaug. Dessert., Zürich, 1908.

BOHAN, *Contributo alla ricerca del contenuto in zucchero nel sangue del cavallo.* — *Svensk veterinartidskrift*, novembre, 1913.

BOLLINGER, *Münch. med. Woch.*, 1886, n. 5 - 6.

BONARD, *Il sangue normale del cavallo. Sua densità e suo tenore in emoglobina misurato coll'emometro di Sahli.* Vol LXI, 3 - 4 marzo - aprile 1919. — *Schweiger Arch. f. Thicheilkunde.*

BOSCHETTI, *Infezioni carbonchiose.* — Tesi di libera doc. Torino, 1894.

BOSCHETTI, *Propedeutica medica comparata.* — *Enciclopedia Vallardi*, vol. II, pag. 386.

BOUSQUET, *Tesi di Parigi*, 1899.

BRADDON, *Corpuscoli particolari e probabilmente specifici delle ematie nella peste bovina.* — *Parassitology*, 1913, ottobre, vol. 6°, n. 3, p. 265 - 275.

BRANDENBURG, *Zeit. f. Klin. Med.*, vol. XXVI, II, 3 - 4, 1889.

BRAT, *Münch. med. Wochen.*, 8 luglio 1902.

BRAZZOLA, *Trattato di anatomia patologica.* — Casa Editrice Vallardi. *Patologia Generale*, vol. I.

BRENER, Berlin, Klin. Wochenschr., 1902, n. 41, p. 954.

BRETON - LARIEUX, *Le malattie dei cavalli.* — *Elementi di Clinica Veterinaria.* Parigi, 1913.

BROEKE, *Due casi di presenza di embrioni di filaria nel sangue del cavallo e del bovino.* — *Annales de Médecine Vétér.*, Toulouse, 1905.

BROLL, *Rec. in « Revue Gener. de Méd. Vétér »*, 1909.

BRUCE, *Preliminary Report on the Tze-tze Hy. discase or Nagana in Zuland.* — *Ubombo Zuland.*, dicembre 1895. London, 1897. Citato da Laveran e Mesnil.

BUFFARD, *Affezione parassitaria simulante la durina.* — *Bull. de la Soc. Centr. de Méd. Véter.*, 1900, p. 197.

BUGARSKY - TANGEL, *Central. f. Physiol.*, II, 227; *Arch. f. Phys.*, 1897, 551.

BUNGE, *Lechrbuch. der physiol.* — *Chemie.* Leipzig, 1898.

BURNET, *S. H. Clinical Pathology of the Domesticated Animals.* Taylor and Carpenter. — Ithaca, n. 7, 1908.

BURNETT - BEARCE, *Esame clinico del sangue dei cavalli morvosi.*
— *American Veterinary Review*, dicembre 1909, p. 338 - 349

BÜRKER, *Münch. med. Woch.*, LII, p. 912 e *Pfügers Arch.* CXLII, p. 337, 1911.

BÜRKER, Arch. Vol. 118, 1907, p. 452 e Verb. d. Congr. f. inn. Med., 1917, p. 515.

CABOT, *Clinical examination of the blood*, 3ª edit. — New-York, 1898.

CADÈAC, *Pathologie interne. Mediastin, coeur, vaisseaux, sang.* Encyclopedie Veterinarie. — Librerie Bailiere et fils. Paris, 1911.

CADIOT, *Studi di Patologia e clinica « Ricerche sperimentali »*. Asselin et Houzeau, — Parigi, 1899.

CALABRESE, *Giorn. intern. delle Scienze Mediche*, 1897.

CANTANI, *Centr. f. Bakter*, 1896, vol. XX, n. 16.

CARNOT, *Presse Médicale*, 1897.

CAROUGEAN, *Studio generale dell'osteomalacia del cavallo. — Rev. gén. Méd. Vét.*, 1912.

CARPANO, *Spirillosi equina. — Un caso di Spirochaeta equi in un cavallo della Colonia Eritrea. — Annali d'Igiene*, 1912.

CARPANO, *Su di un caso di anasarca nel cavallo verificatosi in seguito ad inoculazioni di streptococco. — La Clinica Veterinaria*, 1914.

CARRÈ E VALLÈE, *Sulle sostanze tossiche dei sieri normali. — Soc. de Biol*, 1° febbraio 1901.

CARRÈ E VALLÈE, *Sull'anemia infettiva del cavallo. — Compt. rend. de l'Acad. d. Sciences.* Paris CXXXIX, 1904, n. 26, 1905, p. 1239.

CARRÈ E VALLÈE, *Note sull'anemia infettiva del cavallo. — Bull. mens. de l'Office de Renseig Agricoles*, IV, n. 26, 1905, p. 1075.

CARRÈ E VALLÈ, *Ricerche cliniche e esperimentali sull'anemia perniciosa del cavallo « Tifo-anemia infettiva ». — Rev. Gen. d. Mèd. Vètèr.*, VIII, n. 95, also IX, n. 99, 1907, p. 113.

CAZALBOU, *Sopra un embrione di filaria ematica osservata in Africa Occidentale. — Bull. de la Soc. centr. de Méd. Vétér.*, 1906, p. 596.

CHANEL, Tesi di Lyon, agosto 1880.

CHARRIN E ROGER, *Tossicità del siero sanguigno nella polmonite.* — Soc. de Biol., 1901.

CHARRON, *Tifo-anemia infettiva del cavallo. — Rec. de Méd. Vétér.*, 15 novembre, 1907.

CHATALA E DAUNAY, *Emazie granulose e resistenza globulare, ecc.* — C. R. Soc. Biol., 19 giugno 1907.

CHAUFFARD E BOIDIN, Soc. Méd. de Höp., 23 luglio 1903.

CHAUFFARD, *Semaine médic.*, 1907.

CHAUFFARD E RENDU, *La resistenza globulare nell'adulto. — Presse Méd.*, 1° giugno 1907.

CHAZEAN, *Rev. gener.*, 1911, XVIII, p. 687.

CHIARIA, *Sul titolo del siero fisiologico.* — Giorn. di Farm. e Chim., 1917, p. 221.

CHOMEL, *Leucocitosi.* — *Repertorio di Medicina Veterinaria*, agosto, 1905.

CESANA, *La retrazione del coagulo sanguigno e la sua registrazione grafica.* — Arch. di Fisiol., 1909, vol. VII, p. 345 - 356.

CESARI, *Rev. Gener. de Méd. Vétér.*, 1913, vol. III, — *La Semaine Vet.*, 1914.

CESARIS - DEMEL, *Sulle alterazioni degenerative dei leucociti del sangue studiate col metodo della colorazione a fresco.* — R. Accad. Med. di Torino, vol. XII, anno LXIX, fasc. 6 - 7., 8 giugno 1906.

CESARIS - DEMEL, *Giorn. R. Accad di Med. di Torino*, p. 180, 1907.

CESARIS - DEMEL, *Studio micr. dei corpuscoli rossi del sangue col metodo delle colorazioni vitali.* — *Folia haematologica*, IV, Jahrgang Suppl. Hoft. 1, 1907, S. 1 - 45.

CINOTTI, *Sul reperto ematologico di Cesaris - Demel.* — Il Nuovo Ercolani, n. 10, 1907.

COMINOTTI, *La tifo-anemia infettiva del cavallo.* — *La Clinica Veterinaria*, 1912.

CORNEVIN E THOMAS, *Il carbonchio sintomatico del bue.* — Leipzig, 1865.

CORTI, *Sui globuli bianchi del sangue dei mammiferi.* — *Monit. Zoòlogico Ital.*, vol. XVII, n. 4, 1906.

COSTA E FAYET, *Della resistenza globulare normale in alcune specie di animali.* — C. R. Soc. Biol., 20 giugno 1911.

COURMONT E MONTEGARD, *I leucociti. Tecnica.* — *Ematologia.* — *Citologia.* — Masson et C., Paris, 1902.

COURMONT E ANDRÈ, *Journ. de Phisiol. et de Path. gen.*, 1902.

COURMONT E MONTEGARD, *Monografia sui leucociti.* — Actualités med. Masson, 1903.

COURMONT E LEAIEUR, C. R. Soc. de Biol., 16 febbraio 1901, e *Journ. Physiol. et de Path. gen.*, luglio, 1910.

COZETTE, *Contributo allo studio dell'ematologia clinica in medicina veterinaria.* — *Bull. Soc. Centr. Mèd. Vètèr.*, 1904, p. 519.

CROVERI, *Su un metodo di colorazione emoprotozoaria rimpiazzante il Giemsa.* — Nuovo Ercolani, 1918.

DAMAGNAC, *Sintomi di durina determinati da un embrione di filaria.* — *Rev. Gen. de Méd. Vétér.*, 1911, vol. XVIII, p. 395.

DARE, *Semaine médicale*, 31 dicembre 1902.

DASTRE - FLORESCO, *Arch. de physiologie*, 1896.

DAÜBLER, *Sulla distinzione di sangue di uomo e di animali colla misurazione dei globuli rossi.* — Viertely f. gen. Mèd.. 1899, 17, 258.

Degener, *Un caso di pseudoleucemia. — Zeit. für Veterinarkunde,* gennaio 1910, p. 38 - 41.

Dertyen, *Ricerche sugli eritroblasti. — Virch. Arch. Bol., 164,* 1901.

Desposito, *Sulla batteriemia nell'infezione tubercolare dei bovini.* — Nuovo Ercolani, 1916, n. 13.

Determann, *Zeitschr f. Klin. Med.,* 1906.

Determann, 24° Congr. f. inn. Med., 1907.

Determann, *Sulla critica della viscosimetria del sangue. — Zeitschr. f. Klin. Med.,* 1910, vol. LXX.

Devoto, *Zeitschr f. Heilk.* II, p. 175, 1889.

Diatschenko, *Centralbl. f. Bakter.,* 1904, vol. XXXV, p. 737.

Dodd, *Jour. of. comp. Path.,* 1906, vol. XIX, p. 318.

Dreser, *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm.,* vol. XXIX, p. 41-53, 1892.

Drouin, *Hemoalcalimètrie.* — Tesi di Parigi, 1892.

Dschunkosvsky - Luhs, *La piroplasmosi dei bovini. – Centralbl. f. Bakt.,* 1914.

Durroux, *Contributo allo studio del sangue degli equini. Rapporti leucocitari del sangue di cavallo.* — Tesi. Bordeaux, 1908, n. 140.

Ellemberger - Baum, *Fisiologia degli animali domestici,* 1912.

Ellemberger - Scheunert, *Trattato di fisiologia degli animali domestici.* — Paul Parey, Berlino, 1910.

Elmassion - Mignon, *Sul male di Caderas degli equini Sud-Americani. — Annal. Inst. Pasteur,* aprile 1903.

Engel, *Berlin Klin. Wochenschr,* 1898, vol. XIV, p. 308.

Engel, *Guida all'esame clinico del sangue.* — Trad. it., Torino, 1905.

Eykmam, *Pfluggers Arch.,* vol. 60, 1895.

Eykmam, *Virch. Arch.,* vol. 143, 1896, p. 457.

Fano *Lo sperimentale,* ottobre, 1882.

Fattore, *Sulla batteriemia tubercolare nell'infezione sperimentale.* — Nuovo Ercolani, 1906, n. 7 - 8 - 9.

Favero, *Di alcune ricerche ematologiche in un caso di tetano nella vacca. — Moderno Zooiatro,* 1911.

Favero, *Il potere antitriptico del siero sanguigno in alcune infezioni. — Moderno Zooiatro,* 1902.

Favero, *Sul valore della determinazione del potere catalitico del siero nella diagnosi della morva. — Moderno Zooiatro,* 1914.

Favero, *Stenosi dell'ileo da actinomicoma in una cavalla. — Moderno Zooiatro,* 31 ottobre 1916, n. 10.

Favero, *Larve di gastrophilus equi ed haemorrhoidalis e tifoanemia infettiva del cavallo.* — Nuovo Ercolani, 1916, n. 1-2.

Favero - Varese, *Contributo allo studio della patogenesi dell'anemia nella distomatosi. — Clinica Vet.,* 1915.

FAYET — *Contributo allo studio delle piaghe estive.* — *Recueil de Méd. Vét.*, 1912.

FERRARI, *Osservazioni ematologide nel tetano bacillare del cavallo.* — *La Settimana Veterinaria*, anno I, n. 41.

FERRATA - VIGLIOLI, *Rapporti tra sostanza granulo-filamentosa e policromatofilia.*

FERRATA, *Morfologia del sangue normale e patologico.* — Milano, 1912.

FERRATA, « *Le emopatie* », vol I, Milano, 1918.

FINZI, *Sul potere antitriptico del siero nelle diverse specie animali.* — *Arch. di. fisiologia.* Firenze, vol. 6°, fasc. n. 8, settembre 1909.

FINZI, *Il potere antitriptico, isolitico ed eterolitico del siero sanguigno nei differenti stati patologici.* — *Recueil de Médécine Vétérinaire,* 15 agosto 1910.

FINZI, *La diagnosi della tubercolosi nei nostri animali domestici.* — Tipografia e Cartoleria Orsatti e C., Parma 1911.

FINZI, *Sopra un caso di leucemia linfoadenoide a decorso acuto nel cavallo.* — *Moderno Zooiatro*, 1913.

FINZI, *Vertigine da intossicazione neuro-cerebrale nel cavallo.* — *La Clinica Veterinaria*, 1914.

FINZI, *Sul catarro epizootico laringo-tracheale nel cavallo.* — *Annali d'Igiene Sperimentale*, 1914.

FINZI, *Sulla natura della reazione alla Tubercolina e sulla trasmissione ereditaria degli anticorpi antitubercolari.* — Nuovo Ercolani, 1917, n. 4.

FISCHER, *Ricerche sul sangue del cavallo.* — *Berl. T. Woch.*, 1894.

FODOR, *Deutsch. med. Wochens*, 1887.

FODOR, *Centralblatt f. Bakt.*, vol. XVII, n. 7.

FODOR - RIGLER, *Centr. f. Bakt.*, 1897, vol. XXI, n. 4.

FORGEOT - NICOLAS, *Straordinaria pletora sanguigna in un bovino macellato.* — *Bull. Soc. des Sciences Vétér. de Lyon.*, 5 febbraio 1905.

FORSYT - LIPMANN, *Monatsheft für Thierheilk*, 1910.

FRAENKEL, « *Hygien Rundschau* », 1910, p. 871.

FRANKE, *Ricerche sul contegno dei globuli bianchi nelle più frequenti malattie infettive del cavallo.* — *Monatshefte für prahtische Tierheilkunde*, XIX vol., 2-3 fasc., 1908, pag. 98-120.

FREI, *Ricerche comparative fisico-chimiche del sangue e del siero di cavallo con speciale riguardo alla peste dei cavalli.* — *Zeit. f. Infektionskrankh d. Haustiere*, 1909.

FREIDBERGER UND FRÖHNER, *Metodi di ricerche cliniche in Veterinaria*, 1907.

FREIDBERGER - FRÖHNER, *Trattato di patologia speciale e terapia degli animali domestici*, 1915.

FRIEDENTHAL, *Zeitshr f. Elestrocheme*, 1904.

FRIEDRICH, *Schimott s. Jarbücher*, 1869.

GABRIELIDES - REMLINGER, Comptes rendus de la Soc. de Biol., 18 ottobre 1902.

GARROND, *Gont and rheumati gont.* — London, 1876.

GARTNER, *Allegen. Wiener. med. Zeitug.*, 1892.

GASSE, *Ricerche sul comportamento dei globuli del sangue nelle malattie chirurgiche del cavallo, con speciale riguardo ad alcune infiammazioni. — Monat. für prakt. Tierneilkunde*, XIX, Ban, 2 und 3 Heft., 1907, S. 49 - 98.

GAUTRELET, *I pigmenti respiratori.* — Tesi di laurea in Scienze. Parigi, 1903.

GAY, *Studio critico sulla viscosità del sangue.* — Tesi di Parigi, 1909.

GILBERT - LION. *Ematologia clinica. — Arch. gener. de med.*, novembre e dicembre 1884.

GILBERT - HERSCHER POSTERNAK, *Biol.*, 1901, p. 1000: 1902, p. 386; 1903, p. 1587.

GILIO - TOS *Il rosso neutrale ed i granuli emoglobinici. — Zeit. für Wissenschaflt. Mikr.*, 1898, Bd. XV.

GOETZE, *Metodi di ricerche cliniche per studenti e medici.* — Stuttgart, 1907.

GOUGET, *Alcuni recenti lavori sulla viscosità del sangue. — Presse Med.*, 1° luglio 1911.

GRASVITZ, *Patologia Clinica del sangue*, « 2ª ediz. ». Berlino, 1902.

GRAWITZ, *Metodi di ricerche cliniche ematologiche.* — Lipsia, 1906.

GRIMALDI, *L'esame batteriologico del sangue nelle malattie infettive degli animali. — Archivio Scientifico di Med. Vet.*, n. 3-4, marzo-aprile 1913.

GROSSO, *I granulociti acidofili e basobili. — Riforma Medica*, anno XXXII, n. 13.

GROSSO, *Sulla composizione di un miscuglio neutrale di verde di metile-pironina e orange G. — Folia haematologica*, vol. IX, 1910.

GROSSO, *Sul metodo di colorazione col picrinato di bleu di metilene, ecc. — Folia haematologica*, vol. XVIII, 1914.

GSCHEIKLEN - SPIEGELBERG, *Arch. f. Gynaekologie*, 1872, p. 166.

GUIARD - GRIMBERT, *Elementi di diagnostica clinica*, 1906, Paris, Pudevol.

GUINARD - DUMAREST, *Biol.*, 1897, p. 414-416, 496.

HALDAME - SMITH, *Journ. of physiology*, vol. 25, 5, p. 331.

HAMBURGER, *Zeit. f. Biologie*, vol. IX, p. 259.

HAMBURGER, *Sulla determinazione della pressione osmotica colla crioscopia nei liquidi sierosi fisiologici e patologici. — Centr. f. Physiol*, vol. VII, 27 gennaio 1894, p. 656.

HAMBURGER, *La resistenza dei globuli rossi.* — Rapporto e Congresso di Parigi, 1900,

HAMBURGER, *La pressione osmotica nelle scienze Mediche. — Flandre medic.*, 1914, vol. I, n. 15, p. 405.

HAMMARSTEN, *Ergebrusse der Physiol*, t. I.

HAMMERSCHLAG, *Zeit. f. Klin. Med.*, vol. XXI, p 475, 1892.

HANTHACK - DURHAM - BLANDFORD, *On Nagana, or Tze-tze Hy discase Precedings of the R. Society.* — London, LXIV, 1898.

HAYEM, *Lezioni sulle modificazioni del sangue.* — Parigi, 1882.

HAYEM, *Del sangue e delle sue alterazioni anatomiche.* — Paris, 1889.

HAYEM, *Nota sui globuli bianchi del sangue di cavallo.* — Soc. Biol., 1899, p. 623.

HAYEM, *Lezioni sulle malattie del sangue.* — Parigi, 1900.

HEDIN, *Scandinavisches Arch. Phisiologie*, 1892. — *Pfügers Arch.*, 90, 1895. — *Scand. Arch. f. Phisiol.*, vol. 60, 1895.

HEISSLER, *Arb. ausd. path. Instit., zu München*, 1886, p. 322.

HELLER, *Può presso il cavallo la presenza di ascaridi, ossiuridi e larve d'estro determinare eosinofilia nel sangue?* — Inaug., Disser., Dresden, 1913.

HÈNOCQUE, *Spettroscopia biologica « Aide mèmoire Lèanté ».*

HENSLER, *Lo stato attuale della dottrina della viscosità del sangue.* — Inaug., Dess., Zurigo, 1908.

HESS, *München med. Wochenschr.*, 1907, n. 45.

HIRYCH - BERK, *München. med. Wochenschr.*, 1900.

HIRYCH - BERCK, *Arch. f. Klin. Med.* vol. 69.

HOPPE - SEYLER, *Physiol. Chemie*, p. 400, Berlin, 1881.

HOPPE - SEYLER, *Zeit. fur phys. Chemie*, vol. XVI, p. 461.

HORSZKIESVIZ - MARSE, *Berl. Klin. Wochenschr.*, 1906, n. 35.

HUBER, These Wurtzburg., 1893.

HUGNIER, *Contributo allo studio della filariosi equina. — Bull. de la Soc. Centr. de Méd. Vètér.*, 1904. — *Revue Vétér.*, 1904. — *Ann. de Méd. Vèt.*, 1905. — *Pfügers Arch.*, vol. XXXII, fasc. 9 - 10.

HUTYRA - MARECK, *Patologia speciale e terapia degli animali domestici*, 1913.

KAGAN, *Sulla tecnica dell'esame della viscosità del sangue. — D. Arch. Klin. Med.*, II, vol. CII.

KINSLEY, *Anemia infettiva degli equini.* — American Veterinary Rewiev., ottobre 1909, p. 45-54. — Rec. in B. S. M. V. 1911, p. 478.

Könic, *I corpuscoli rossi nell'emoglobinemia.* — *Monatshet für praktische Tiercheilkunde,* 1910.

König, *Ricerche comparative sul numero delle emazie e il tenore del sangue in emoglobina nei cavalli sani e in quelli affetti da emoglobinuria reumatica o da altre affezioni interne.* — *Monatsh. f. prakt. Tierch.*, XXI, 1 - 2, 1910.

Köppe, *Arch. f. Anat. u. Physiol.*, 1895.

Kossel, *Zeit. f. physiol. Chem.*, t. II.

Kottmann, *Sulla viscosità del sangue.* — Correspondenzbl. f. Shweinz. Arzte, 1907, n. 4.

Kottmann, *Archiv. f. escp. Pat. u. Ther.*, vol. LIV, 1916.

Ilberg, *Il sangue dell'uomo e degli animali nei rapporti forensi con speciale riguardo alle granulazioni neutrofile.* — Thèse Berlin, 1895.

Jaksch, *Zeitschr. f. Klin. Med.* vol. 13, p. 350, 1887.

Jaksch, *Zeitschr. f. Heilk.*, XI, 415, 1890.

Jaksch, *Klin. Diagnostik.*, 1892.

Joest, *Ulteriori ricerche sulla meningite cerebro-spinale infettiva del cavallo con speciale riguardo alla patogenesi ed ai corpi endonucleari.* — *Zeitschr. f. Infkt. parasit. kr. u. Hyg. d. Haust.* Vol. 9, fasc. 1-2. Berlino, 1911.

Joest - Jahmichen, *Alcune constatazioni ematologiche sull'osteomalacia del cavallo.* — Berlin, *Tierarztl Wochenschr*, 26 febbraio 1914.

Jolles, *D. med. Wochenschr.*, 1897, n. 10 e 1898, n. 7.

Jolly, *Istologia patologica del sangue.* — *Man. d'hist. palh.*, 3ª édit., t. II, 1902, Alcan édit.

Jolly, *Ricerche sulla formazione dei globuli rossi nei mammiferi.* — Ph., V a IX, *Arch. d'Anal. microsc.*, t. IX, giugno 1907, p. 133 - 314, 1907.

Jona, *Resistenza del sangue del feto e del neonato.* — *Rif. Med.*, 1895.

Jousset, « *Inoscopia* » *Jour. de Physiol. et de Pathologie*, gennaio 1903.

Jutte, *Inaug. Dissert. Dorpat.*, 1894.

Labbè, *Il sangue.* — *Physiologie générale*, vol. I, Paris, 1902.

Labbé, *L'esame del sangue può servire alla diagnosi del cancro?* — *Jorn. des praticiens*, 31 maggio 1902.

Labbè, *Le variazioni dell'alcalinità del sangue.* — *Presse Med.* 18 ottobre 1902.

Labbè, *Valore delle leucocitosi nella diagnosi e nella prognosi delle malattie.* — *Médécine Moderne*, 14 gennaio, 1903.

Labbè, in Besanson e M. Labbè. — *Traite d'hematologie*, p. 44.

LABBÈ, *Analyse Clinique du sang. — Encycl. Scient. des Aide. — Memoire*, Paris.

LABBÈ, - FROIN, *Presse Medicale*, 20 maggio 1903, n. 40, p. 384.

LACKER, *Determinazione dell'emoglobina nel sangue mediante l'emometro di Fleisch. — Wiener med. Wochenschrift*, 1886.

LANDOIS, *Physiologie di Landois*, p. 16.

LANFRANCHI, *Un caso di pseudo-morva del cavallo dovuto a una filaria.* — Società Toscana d'Igiene, 21 giugno 1906, Firenze.

LANFRANCHI, *Contributo allo studio della malaria cronica del cavallo. — Il Moderno Zooiatro*, n. 13, 1908.

LANFRANCHI, *Studi ematologici in cani affetti sperimentalmente da surra. — La Clinica Veterinaria*, 1910.

LANFRANCHI, *Il Moderno Zooiatro*, 30 settembre 1911.

LANGERON, *Osservazioni sull'impiego del perossido di benzolo in ematologia coloniale. — C. R. Soc. de Biologie*, LXXVI, p. 502, 1914.

LAPICQUE, Thèse de Paris, 1895.

LAPICQUE - VAST, *Metodo colorimetrico per apprezzare la resistenza globulare.* — C. R. Soc. Biol., 1899.

LAPICQUE, *Sur la courbe hematolotique. — C. R. Soc. Biol.*, 28 juillet 1900.

LAVERAN, *Sulla spirillosi dei bovini. — Annales in Revue gener.*, 1903.

LAVERAN - VALLÈE, C. R. Acad. des Sciences, 1915, vol. CL.

LAVERAN - MESNIL, *Tripanosomi e tripanosomiasi.* — Parigi, 1912.

LEGRAS, *Sulle forme emogregariniche viste nel sangue e nei tessuti ganglionari dei bovini d'Algeria. — Bull. de Pathologie exotique*, 1918.

LESAGE, *Dell'influenza di alcune condizioni fisiologiche sulla resistenza globulare. — C. R. Soc. Biol.*, 28 juillet 1900.

LESSER, *Sitzungoberichte des Kgl. sachs Gesell. d. Wessëu*, 1873, p. 873.

LIGNIÉRES, *Contributo allo studio della tripanosomiasi degli equini Sud-Americani conosciuta col nome di « Male di Caderas ». — Rivista de la Sociedad Medica Argentina*, Buenos Ayres, 1902.

LINGARD, *Osservazioni sugli embrioni di filaria trovati nella circolazione generale degli equini e bovini.* — Londra, 1905; Rec. in *R. G. de Méd. Vétér.*, 1906, vol. VIII, p. 181.

LÖEWY, *Arch. f. d. ges. Phys.*, t. LVIII, 462; XII, 34.

LOEVY - ZUNTG, *Pflüggers Arch.*, 58, 1894.

LÖWE, *Ricerche ematologiche nelle malattie dell'apparecchio digestivo dei cavalli.* — Inaug. Dissert., 1912.

A. Lumière - L. Lumière - Barbier, *Titolazione dell'alcalinità del sangue.* — *Arch. de Méd. expèr.*, novembre 1901.

Macchia, *Ricerche sperimentali sulla leucocitosi.* — *Nuovo Ercolani*, p. 468, 1903.

Mack, *Equine anemia.* — *Agricultural Experiment.* Station the University of Nevada. Bull., n. 68, marzo 1909.

Magazzari, *Su di un caso di anasarca nel cavallo.* — Ricerche cliniche e sperimentali. — *Il Moderno Zooiatro*, 30 giugno 1915, n. 6, p. 225.

Magazzari, *La ricerca della resistenza globulare in Medicina Veterinaria.* — *Arch. Farmac. Sperim. e scienze affini*, 1918, 1° ottobre, p. 211.

Magyary - Kossa, *Influenza della dispnea sulla coagulazione del sangue e sulla ripartizione delle emazie nell'organismo.* — *Közlemenyek az osszefhasonlito elit-ès Kortan Köreból*, 18 febbraio, vol. IX, l. 2 - 3, 1911.

Malassez, *Le prime ricerche sulla resistenza delle emazie.* — Soc. Biol., gennaio 1895.

Malassez, *Soluzioni salate delle fisiologiche.* – Soc. de Biol., 1895. pag. 504.

Malassez, *Pretesi liquidi conservatori dei globuli rossi.* — Soc. de Biol., 1896, p. 511.

Malkmus, *Elementi di diagnosi clinica.* Traduzione in francese Monvoisin. — Parigi, 1906.

Mandel, *Su una filaria nel sangue del cavallo.* -- *Centralbl. f. Bakt.*, 17 dicembre 1910, vol. LVI, Orig. p. 84.

Mandel, *Numerose microfilarie osservate nel sangue di un cavallo dell'Istituto d'Igiene di Berlino.*

Marcano, *La sedimentazione sanguigna.* — *Journal de Physiol. et Path. Gener.*, 15 marzo 1901.

Marcone, *Malattie infettive.* — *Enciclopedia Vallardi*, Milano.

Marcis, *Il valore diagnostico degli esami del sangue nella morva.* — Allatorvosi Lapok., 3 maggio, 6 - 13 giugno 1914.

Marek, *Trattato di diagnosi clinica nelle malattie degli animali domestici*, 1903,

Martinet, *Pressione arteriosa e viscosità.* — *Presse Med.*, 11 ottobre e 13 dicembre 1911.

Martin, *Su un caso di spirillosi del cavallo osservato nella Guinea Francese.* -– Comptes Rendus de la Soc. Biol., 1905.

Maragliano, *Sulla resistenza dei globuli rossi del sangue.* — Accad. di Genova, 1885.

Martoglio - Carpano, *Sopra un caso di Hoemogregarina bovis.* — *Ann. Igiene Sperimentale*, t. XXVI, 1906, p. 251 - 255.

MAZZANTI, *Giornale R. Soc. ed Accad. Veter. Italiana*, 1900.

MAY, *La resistenza globulare alle soluzioni ipotoniche dopo perdite sanguigne.* — C. R. Soc. Biol., 28 juin 1913.

MAY, *Studi sulla resistenza globulare.* — These de Doctorat, Paris, 1914.

MEIER, *Contributo alla patologia comparata del sangue.* — *Zeitschrift für Tiermedizin*, vol. X, fasc. 1-2, 1906.

MELONI - MANCINI, *Dell'esame globulimetrico del sangue nella morva.* — Tipografia Guerrera e figlio, Napoli, 1901.

MELONI - DE GALITIIS, *La produzione della leucocitosi nella morva.* Napoli, 1901.

MELONI - CIAFRÈ, *L'azione della malleina sul sangue di animali sani e mocciosi inoculata in dosi e per vie diverse.* — Tipografia Editrice Tocco e Salvietti. Napoli, 1902.

MELLO, *Alcune ricerche sul siero di cavalli affetti da tumori maligni.* — *Bull. R. C. Soc. Centr. de Med. Veter.*, 1909 n. 24.

MELLO, *Ricerche sierologiche per la dimostrazione degli antigeni neoplastici, dell'attività complementare, della diminuita alcalinità negli equini affetti da carcinosi.* — *Arch. Scient. di Med. Veter.*, Torino, 1913, n. 1-2.

MEMMO - MARTOGLIO - ADAMI, *Infezioni protozoarie negli animali domestici.* — *Annali d'Igiene Sperimentale*, 1915, p. 1.

METTAM, *Piroplasmosi bovina.* — *Sarcocystis Tenella chez le monton et le bœuf.* — *Journ, of. Hyg.*, t. V, n. 3.

MICHELI, *I leucociti del sangue umano in condizione normale e patologica.* — Comptes Rendus de la Soc. Biol. 1905.

MICHELI, *Giorn. R. Accad. di Med. di Torino*, p. 199, 1907.

MILIAN, *Contributo allo studio della coagulazione del sangue.* — Soc. de Biologie, 25 maggio 1901.

MILIAN, *Influenza della pelle sulla coagulazione del sangue*, — Idem. 1° giugno 1901.

MIKRUKOFV, *Influenza della morva sulle osservazioni di emazie.* — Comptes Rendus Charkover Institut, 1884.

MOHR - STACHELIN, *Trattato di Medicina interna*, vol. IV, 1914.

MONTANDON, *Ricerche sul volume degli eritrociti e leucociti nel sangue del cavallo mediante l'ematocrito.* — *Schweiger Arch. für Tiercheilkunde*, LXI, 2 febbraio 1919.

MORAT - DOYON, *Trattato di fisiologia.*

MOROCHOSVITZ, *Esperimenti e ricerche sulla coagulazione del sangue.* — *Veterinarbote*, vol. 3°, 1884.

MORASVITZ - LOSSEN, *Sull'emofilia.* — D. Arch. f. Klin. Med., 1908, vol. XCIV, p. 110 - 124.

MORASVITZ, *D. Arch. f. Klin. Med.*, 1918, vol., 93, fasc. 3.

MORETTI, *Elementi di Semeiotica Veterinaria.* — Tipografia Legale, Vicolo Forni, n. 7, Modena, 1885.

MORETTI, *Della febbre tifoide del cavallo.* — Pavia, 1899.

MOUSSU, *Traitè des maladies du betail.* — Troisième edition Asselin et Houzean. Paris, 1911.

MULLER, citato da Oreste e Marcone.

MULLER, *Osservazioni sulla sedimentazione spontanea del sangue.* — Berlino, 1898.

MULLE - ZADA, *Sulla viscosità del sangue.* — *D. Med. Wochensch*, 1904.

MUNK, *Fisiologia dell'uomo e degli animali domestici.* — Edito da August Hirschwald. — Inaug. Dissert., 1913.

NÄGELI, *Malattie e diagnostica del sangue.* — Trattato di ematologia morfologica. Edito da Veit e C., 1912.

NEBELTHAN, XV Kongres f. inn. Med., 557.

NEUBERT, *Le cause dell'ittero nella febbre tifoide del cavallo.* — Inaug. Dissert., Berna, 1910.

NEVEU - LEMAIRE, *Parassitologie des animaux domestiques.* — Paris, 1912.

NEVERMANN, *Sull'esame del sangue nella lotta contro la morva.* — Berlin, *Tierarztl. Wochenschr.*, 16 luglio 1914.

NEPVEN, C. R. Soc. de Biol., 1874, p. 82, e *Mémoires de chirurgie*, 1880, p. 163.

NICOLAUS, *Berl. tierärztl. Woch.*, 1911, p. 218.

NIESSEN, *Deutsche tierärztl. Woch.*, 1913.

NOCARD - LECLAINCHE, *Le malattie microbiche*, 3ª ed., vol. II, p. 245.

NOLF, *Natura e trattamento dell'emofilia.* — Le Salpel, agosto 1908.

NOLF - HERRY, *Dell'emofitia.* — *Revue de Med.*, 1909 e 1910.

OBICI *Riforma Medica*, 1895, n. 21.

OERUM, Arch. f. Klin. Med., vol. 93, 1908, p. 366.

ORESTE - MARCONE, *Semeiotica delle malattie interne degli animali domestici*, 1897 - 1898.

OSTERTAG, *Ricerche sul decorso e sulla lotta dell'anemia infettiva del cavallo.* — *Zeit. f. Infektionskrank. parassit krank u. Hyg. der Haustiere*, Bd. III, n. 112.

OSTWALD - LUTHER *Physik-chemische Menungen*, Leipzig, 1902.

OTTO, *Zeit. f. phys. Chem.*, t. VII.

OTTO, *Malyls Jahresh.*, t. XVII, 1887, 136.

PAGES, *Del sangue negli animali da macello.* — *Hygiene de la viande et du lait.* — Maggio 1908, p. 193 - 211.

PANUM, *Arch. f. path. Anat.*, XXIX, p. 241.

PANIZZA, *Di alcune ricerche sull'origine dell'eosinofilia.* — *La clinica Veterinaria*, 1910.

Papesco, *Contributo allo studio delle modificazioni degli elementi figurati del sangue nella durina.* — *Arch. Veterinar.*, n. 3 - 4, 1913.

Pappenheim, *Folia haematologica*, XIII, Archiv., p. 340, 1912.

Pappenheim, *Tecnica delle ricerche cliniche sul sangue, per studenti e medici.* — Edito da Julius Springer, 1911, Inaug. Dissert., 1913.

Pappenheim, *Tecnica dell'esame clinico del sangue.* — Traduzione italiana Minerbi. Torino, 1914.

Paris - Salomon, *Nota preliminare sulla resistenza globulare nel bambino.* — C. R. Soc. Biol., 1913.

Pasteur - Vallery - Radot - Lhèritier, *Studio sulla patogenesi della febbre biliare emoglobinurica dei bovini in Algeria.* — *Bull. de la Soc. de Path. Exot.*, n. 4, 1919, p. 202.

Pasteur - Vallery - Radot - Lhèritier, *Parallelismo tra la resistenza globulare alle soluzioni clorurate sodiche e la dimensione delle emazie nei mammiferi.* — Soc. de Biol. Seance du mars 1919, p. 195.

Patella, *I leucociti non granulosi del sangue, loro genesi e significato.* — Tipog. Bernardini, Siena, 1906.

Peiper, *Virchosv s Arch.*, vol. CXVI.

Perucci, *Osservazioni sulla materia equina « Piroplasmosi ».* — *La Clinica Veterinaria*, n. 4, della Sez. Scientifica, 1907.

Perucci, *Studi ematologici sulla piroplasmosi equina.* — Bologna, 1908.

Piperno, *Contributo allo studio della resistenza dei globuli rossi nel sangue alle soluzioni cloruro-sodiche ipoisotoniche.* — *Il Policlinico*, Sez. Med., 1904.

Place, *Jour af. trop. vet. science*, 1911, I.

Plesch, *Verhandlungen des Congr. f. inn. Med.*, 1907, p. 584.

Poisenille, *Ann. de chimie et de physique*, 1847.

Pomella, *La pleuropolmonite settica dei vitelli in rapporto alle altre polmoniti dei bovini.* — Tesi di libera docenza, Torino.

Postnikows, *La densità del sangue del cavallo misurato col metodo Hammerschlag.* — *Veterinary Wratsch*, 19:6, « russo ».

Preller, *Sul diabete mellito nel cavallo.* — Inaug. Dissert., Berna, 1908.

Preveld, *Paris Medical*, 1917, n. 39.

Prevot, *Quantità di sangue che può fornire un cavallo.* — Bull. Société Centrale, 1904.

Prus, In « *Oesterr. Zeitschrtft für wissen Veterinarkunde*, 1894, p. 124.

Pugliese, *Contributo allo studio delle sostanze anticoagulanti del*

sangue e degli organi e tessuti. — *Journ. de phis. et de path. gen.*, 1905, vol. VII, p. 337.

QUINQUAUD, *Traité d'hématologie clinique* e *Acad. des Sc.*, 1873, 18 agosto.

REBUSCHINI, *Le malattie del sangue.* — Manuale d'ematologia, Milano, 1902.

RÈFIK - BEY, *Annales Inst. Pasteur*, 1902.

RIBIERRE, *L'emolisi e la misura della resistenza globulare.* — Thèse de Paris, 1903.

RIBIERRE, *Della resistenza dei globuli rossi e sue variazioni.* — *Folia haematol.*, 1905, t. H.

RICCA - BARBERIS, *Studi ematologici.* — Torino. 1912. Unione Tipografico Editrice Torinese.

RICKMANN, *Berl. tierärzt. Woch.*, n. 17, 1900.

RIGLER, *Centralblatt f. Bakter.*, 1901, 13 dicembre, vol. XIX, n. 22.

RIGLER, *Central. f. Bakter.*, 1901, 18 dicembre.

RIVABELLA, *Su di un reperto citologico caratteristico di alcune affezioni congiuntivali del cavallo.* — *La Clinica Veterinaria*, 1914.

RIVAS - ZANOLLI, « *La Tembladera* » *Maladie prope aux herbivores des régions Andines.* — *Rev. de la Facultad de Agronomia Veterinaria.* — La Plata, t. V, 1909.

ROBERT - TISSOT, *Folia haematologica*, vol. IV. fasc. 4, 1907.

ROGER, *Introduzione allo studio della viscosità del sangue.* — Arch. de méd. exper., 1908, vol. XX, n. 5, p. 565.

ROGER, *Assenza d'emolisi nel siero d'un cavallo emoglobinurico.* — *Revue Vétérinaire Militaire*, 30 giugno, 1919.

ROMANOVITIH, *Microfilaria dei cavalli affetti da bottoni emorragici.* — C. R. Soc. de Biol., 1914, vol. II, p. 390.

ROMANOVITIH, *Microfilaria emorragica del cavallo.* — Idem., 1914, p. 745.

ROMME, *A proposito della viscosità del sangue.* — *Presse Méd.*, 1909, n. 1.

RONCAGLIO, *Sulla sostanza granulo-filamentosa degli eritrociti in alcuni animali domestici.* — *Pathologica*, vol. V, n. 193, 13 febbraio 1913.

ROOK, *La distomatosi delle pecore.* — Tesi di libera docenza. Pisa, 1917.

ROSS, *Proc. Roy. London*, LXXXI, p. 97, 1909. Lanct, 16 gennaio 1909. — *Brit. med. journ.*, 14 dicembre 1912.

RÖSSLE, *Ricerche sul contegno dei leucociti nel sangue del cavallo nelle condizioni normali e nei processi chirurgici infiammatori e suppurativi.* — Inaug. Dissert., Giessen, 1907.

ROSENTHAL, *Le citrate de soude en solution comme mileu d'étude de la resistance globulaire.* — *Rev. de Pathol. Comp.*, avril 1918.

ROY, *Proc. Physiol.*, soc. 1884.

RUMMO - BORDONI, *Riforma Medica*, ottobre, 1889.

RUMPF, *Centralbatt f. med. Wissensch*, 1894.

RUMPEL, *München. med. Wochenschr.*, 5 febbraio 1901.

RUSNYAK, *Zur Frage der indivichelton Verschiedenheiter der roten Blutkorperchen bei der Hamolyse.* — *Bioch. Zeitschr.*

RUSSEL - BRODIN, *Journ. of. physiol.*, maggio 1897.

SABRAZÈS, *Processo della determinazione del tempo necessario alla coagulazione del sangue.* — *Folia haemat*, 1906, p. 432-335.

SABRAZÈS - LAFON, *Granuloma a mastzellen e eosinofili in un cavallo.* — Soc. de Biol. de Paris, 3 dicembre 1907. *Folia haemat.*, 1908.

SABRAZÈS - DURROUX - MARATET, *Il sangue di cavallo.* Soc. de Biol., Bordeaux, 7 luglio 1908: *Gaz hebd. des Sc. med. de* Bordeaux, 12 luglio 1908.

SABRAZÈS, *Gaz. hebd. sù med.* de Bourdaux, 29 novembre 1908. — *Arch. maladies cœr, vaiseaux, sang,* III, 1910. — *Folia haematologica*, Arch. X, 1910, C. R. Soc. de Biol., LXX, p. 247, 1911.

SALKOSVSKI, *Centr. f. u. Wissensch*, 1898.

SAHLI, *Manuale dei Metodi Clinici d'esame.* — Parte II, 1913. Casa Editrice Vallardi.

SAHLI, *Sulla natura dell'emofilia.* — *Zeit. f. Klin. Med.*, 1905, vol. LVI, p. 1-53.

SAHLI, *Nuovo contributo alla dottrina dell'emofilia.* — *Deuts. Arch. f. Klin. Med.*, 1910, vol. C, p. 518.

SCHMALZ, *D. Arch. f. Klin. Medécin*, vol. 47, p. 145, 1890.

SCHMALZ, *D. med. Worch.* 1891, n. 170, p. 555.

SCHEIN, *Spirillosi dei bovini nel Sud-Annam.* — *Bull. de la Soc. de Exotique*, 1910.

SCHILLING, *Centralbl. f. Bakteriol, Abt.*, I, origin., Bd. XXX, 30 ottobre 1901; Bd. XXXII, 16 aprile, 1902; Bd. XXXIII, genn. 1903.

SCHILLING - TORGAN, *Folia haematologica*, IX, p. 332, 1909, Arch. f. Schiffs. und Tropenhygiene XV, p. 126, 1911.

SCHINDELA, *Ricerche emometriche nelle malattie del cavallo.* — Osteneichische Zeitschrift, 1887 - 1888.

SCHMIETT, *Diagnostica clinica e propedeutica delle malattie interne.* — Società Editrice Libraria, 1913.

SCHONDORFF, *Arch. f. d. ges., Phys.*, t. LXIII, p. 191; t. LXXIV, p. 357.

SCHÜCKING, *Berliner Klin. Woch.*, 1879, n. 39.

SCHULZ - SCHULZENSTIEN, *Centralblat. f. d. med. Winenschoften*, 1894, p. 801.

SCHULTZ, *Monatschefte, f. Psychiattie u. Neurologie*, vol. 22, fasc. I, 1908.

SCHUTZE, *Ricerche sul numero dei corpuscoli rossi e bianchi nel cavallo sano. — Zeitschr. f. Tiermed.* Bd., 16, 1912.

SCOTTI, *Un caso di piroplasmosi cronica nel cavallo.* — Pistoia, 1914.

SCOTTI, *Alcune osservazioni sulla sedimentazione spontanea del sangue. — La Settimana Veterinaria,* anno II, 1915.

SCOTTI, *Leucemia linfoadenoide nella vacca. — Moderno Zooiatro,* n. 12, 1915.

SELLTHOLTER, *Sull'anemia perniciosa del cavallo.* — Inaug. Dissert., Berna, 1910.

SEMMER, citato da Bidault.

SENATOR, *Deut. med. Wochenschr.*, 18 gennaio 1900.

SERGENT - LHÈRITIER, *Febbre biliare emoglobinurica del bue in Algeria, malattia distinta dalle piroplasmosi. — Bull. de la Soc. de Path. Exot.*, 1919, n. 2, p. 108.

SONSINO, *The Veterinariam*, 1877.

SONSINO, Atti della Società Toscana di Scienze Naturali, 1888.

STAZZI, *Un caso di piroplasmosi cronica. — Malaria cronica. — La Clinica Veterinaria*, aprile 1907.

STORDY, *Journ. of. comp. Path.*, 1906, vol XIX, p. 226.

STORCH, *Ricerche sul contegno dei globuli sanguigni nel sangue degli animali domestici.* — Inaug. Dissert., Berna, 1901.

STURHAN, *La leucocitosi nella polmonite infettiva « Brustseuche ». — Zeit. für Veterinärkunde*, giugno 1905.

STURHAN, *Zeitschr. f. Veterinärkunde,* 1907, vol. XVII, p. 248.

TABUSSO, *Osservazioni sul sangue di cavallo tetanico. -- Archivio Scientifico*. Torino, 1905.

TABUSSO, *Sulla leucocitosi del cavallo sano. — Archivio Scientifico.* Torino, 1918, n. 3-4.

TALLQVIST, *Arch. géner. de Médecine.* Nuova serie, vol. III, 1900.

TAMMAN, citato da Morat e Doyon.

TEISSIER - CADE - ROMBIER, *Resistenza dei globuli rossi durante certi stati patologici. — Lyon Med.*, 1908.

TESSÈ, *Emoglobinuria da lavoro nel cavallo. — Moderno Zooiatro.* 1911.

THUDICHUM, *Ueber das Lutein und Spectrum gelbgefarbter organischen Substanzen.* — In *Centr. f. d. Med. Wiss.* 1869, t 7. p. 1.

THUDICHUM, *On the reaction of some biliary principles, particulary bilirubin with iodine.* — In *Med. Press. and Cir. London,* 1896, p. 203.

TISSIÈ - BLUMENTHAL, *Contributo allo studio della fatica nelle corse in montagna. — Journ. de phys. et de path. gener.*, t. X.

TRÖSTER, *Sull'esame del sangue. — Rec. Zeit. für Veterinarkunde*, 1906.

TRÖSTER, *Sull'esame del sangue. — Zeit. Veterinarkunde*, febbraio, 1912.

TÜRK, *Contegno del sangue nelle malattie infettive acute.* — Wien, 1898.

TÜRK, *Vorlesungen über Klinische Haematologie*, I, 1904.

UTENDÖRFER, *Sulla leucocitosi nei bovini con speciale riguardo alla gravidanza ed alla tubercolosi. — Archiv. für wissensch. u. prakt. Tierheil.*, vol. XXXIII, Berlino, 1997.

VACHETTA, *Dizionario pratico di veterinaria.* — Casa Editrice Vallardi, Milano.

VAGT, *D. T. Wochenschr*, 1906, 357.

VAN DER LAAN, *Sull'equilibrio osmotico fra il sangne, il latte, e la bile nella vacca. — Biochemische Zeitschrtft.*, vol. 71, n. 4-5, p. 289 - 305, Berlino, 4 ottobre, 1915.

VAN DER LAAN, *L'equilibrio osmotico fra sangue e latte nella vacca.* — Idem., vol. 73, n. 5 - 6, pp. 313 - 325, Berlino, 4 aprile 1916.

VANGOIDZNHOVEN, *Filariosi equina. — Annales de Med. Veter.*, 1907.

VAQUEZ, *Dei metodi proprii a stabilire la resistenza dei globuli del sangue.* — C. R. Soc. de Biol., 1898.

VAQUEZ, *Resistenza dei globuli rossi.* — Rapport au Congres de Paris, 1900.

VALILLO, *Ipoeosinofilia ematica ed istoesinofilia nell'afta epizootica. — La Clinica Veterinaria*, 1910.

VALILLO, *Il potere chemiotattico positivo della tossina dello sclerostoma bidentato e delle larve di questo negli eosinofili polinucleari. — La Clinica Veterinaria*, sez. scient., 1908.

VALILLO, *Ricerche sul contegno degli eosinofili nel sangue di cavalli affetti da sclerostomiasi. — Berl. tierärz. Wochen.*, 1909, n. 5.

VIERORDT, Arch. der Heilkunde, 1878, 18, 193.

VEIRASSANT, *Delle variazioni della resistenza delle emazie e dell'emoglobina nei diversi stati patologici.* — Thèse de Lyon, 1902.

VIOLA, *Il metodo per la misurazione della resistenza dei globuli rossi. — Gaz. degli Ospedali di Milano*, 1894, p. 115, e *Arch. de physiologie*, 1895, p. 37. — Lavori dell'Istituto di Clinica Medica Generale di Padova, 1902.

WALTHER, *Contributo alla conoscenza delle piastrine e della coagulazione del sangue con speciale riguardo a quello dei cavalli.* — Inaug. Desser., 1910.

WEDL, *Contributo alla conoscenza delle ematoziosi.* — Deuth. der Wienner Accad., t. I, 1849.

WEIL, *Studio del sangue degli emofilici. — Bull. et mem. de la Soc. méd. des Hôp. de Paris*, 20 ottobre 1906.

WEINDENREICH, *Folia haemotologica*, III, p. 1 - 7, 1906.

WEINDENREICH, *Contributo sulla natura dei leucociti granulari. — Arch. f. mikrosk. Anat. und Ent.*, vol. 72, 1908, p. 209-325.

WEINBERG - ALEXANDBR, *Alcuni dati sull'eosinofilia nell'elmintiasi. — Bull. Soc. Path. exotique*, 1908, p. 459 - 463.

WEINBERG - MELLO, *Ricerche sperimentali sull'origine dell'eosinofilia nelle elmintiasi. — Bull. Soc. Path. Eot.*, 1908, t. I, p. 463.

WEINBERG, *Emodiagnosi del cancro.* — Parigi, 1910.

WELKER, *Arch. f. ration. Medicin*, vol. IV, 1858, p. 145.

WETZE, *Ricerche ematologiche cliniche — Zeitsch. f. Tiermed.*, vol. XXV, Jena, 1910.

WETZL, *Esame clinico del sangue*, — Inaug. Dessert. Budapest, 1908.

WIDAL - LEMÈ, *Applicazioni cliniche della crioscopia* in *Traitè de Path. gener.*, vol. VI.

WIENDIECK, *Ricerche sul contegno dei corpuscoli sanguigni nel cavallo sano e affetto da polmonite crupale. — Arch. f. wiss u. prakt. Tiercheilkunde*, 1905, Bd., 31 Heft. 1, n. 2.

WIENDIECK, *Ricerche sul contegno dei globuli sanguigni nel cavallo sano e affetto da polmonite crupale. — Arch. f. prakt. Tiercheilkunde*, 32 Band., p. 113, 1906.

WINTER, *Sul punto di congelamento di alcuni liquidi dell'organismo*, — Comp. Rend. vol. CXXI, p. 696, 1895.

WINTER, *Delle concentrazioni molecolari dei liquidi dell'organismo. — Arch. de Physiol.*, n. 15, vol. VIII, pag. 114-119, 1896.

WIRT, *Zeitsch. fur Infektionshr.*, Berlino, 1911, vol. X, p. 161, 1912, vol. XII, p 205.

WITYENS, *La colorazione coll'inchiostro di china.* — Inaug. Dissert., Utrecht, 1913.

WOLF, *Ein Versuch zur Lösung des Glykogenproblems. — Zeit. f. Klin. Med.*, 1904, L. I., p. 407.

WORN - MULLER, *Trasfusion à Plethora Christiana*, 1875.

YAKIMOFF - KOHL, *Sulla natura del sangue di cavallo nelle diverse razze.* — Monatsheftr für praktische Tiercheilkunde, 1910.

YAKIMOFF, SCHOKHOR, KOSELKINE, WINOGRADOFF, DEMIDOFF, *La microfilariosi dei cavalli al Turkestan. — Bull. de la Soc. de Pathol. Exotique*, n. 3, 11 marzo 1914.

YAKIMOFF, SCHOKHOR, KOSELKINE, *Microfilaria dei bovini. — Bull. de la Soc. di Path. Escot.*, Seduta 14 febbraio 1917.

ZAGARI, *Giorn. intern. delle Scienze Mediche*, 1892.

ZANGEMEISTER, *Zeitsch. f. Biologie*, vol. XXIII, p. 72, 1896.

ZHEILER, *Journ. of. comp. Path.,* 1904, XVII, 47, Bull. Institut Pasteur, 1905, II, p. 617.

ZIEMANN, *Centralbl. f. Bakter.*, 1905, XXXVIII, p. 447.

ZIEGLER IN SCHUPFER, *Trattato di diagnostica clinica, malattie interne.* — Casa Editrice Vallardi, 1915.

ZIETSCHMANN, *Le cellule acidofile del cavallo.* — Worch. Bol., 13, Heft., 16, 1905.

ZINOFFSKY, Inaug. Dissert. Dopart., 1885.

ZOLLIKOFER, *Sulla iodoreazione dei leucociti.* — Inaug. Dissert. Bern, 1899.

ZSCHOKKE, *Schw. Arch.*, 1893, vol. XXV, p. 11.

ZUNTZ - LOEWY, *Centr. f. d. med. Wineusch.*, 1894, vol. XXXIII, p. 785.

INDICE BIBLIOGRAFICO

H

K

I

J

L

M

N

O

P

Q

R

S

T

INDICE

WELLCOME
LIBRARY
INSTITUTE

Dello stesso Autore.

Dell'azione del siero umano-normale e di affetto da tripanosomiasi su la morfologia del tripanosoma Evansi, in rapporto ai metodi tripanometrici — (in collaborazione col Prof. A. Lanfranchi). — Estratto dal « Bollettino della Società Medica di Parma », anno 1914.

Gastro-enterite subacuta da egagropile nel cane. — Estratto da « La settimana Veterinaria », anno 1915.

Sui nuovi mezzi di diagnosi della morva. — La profilassi della morva negli equini dell'esercito francese. — Estratto dal « Moderno Zooiatro », anno 1915.

Ricerche sperimentali su di una nuova varietà di « Nocardia bovis »: Actinomyces Lanfranchi (con 5 figure). — Estratto dagli « Annali d'Igiene », anno 1916.

Un caso di « Vertigo Cardiaca » nel mulo. — Estratto dal « Nuovo Ercolani », anni 1916 e 1917.

Sul passaggio del virus rabido attraverso la mucosa oculo-congiuntivale sana e traumatizzata. — Estratto dagli « Annali d'Igiene », anno 1917.

Sull'esame microscopico degli strisci non colorati. — Estratto dal « Nuovo Ercolani », anno 1917.

Il cane nella propagazione del carbonchio ematico. — Estratto da « La Clinica Veterinaria », anno 1917.

Sul valore del metodo di Wulff nella diagnosi del carbonchio ematico. — Estratto da « La Clinica Veterinaria », anno 1917.

Sulla terapia delle otiti suppurate col siero antipiogeno polivalente. — Estratto dal « Nuovo Ercolani », anno 1919, n. 2-3.

Esistono sostanze spirocheticide nel siero normale del cane di fronte alla spirocheta del Morbo di Weil? — Estratto dagli « Annali d'Igiene », fasc. II, 1919.

Su di un caso di tumore primitivo del peritoneo nel cane (con due figure). — Estratto dal « Nuovo Ercolani », 1919, n. 6, 7, 8, 9, 10.

Notes on a haematozoa infesting the marsch tortoise (con sette figure). — Estratto da « The Veterinary Journal », maggio 1919.